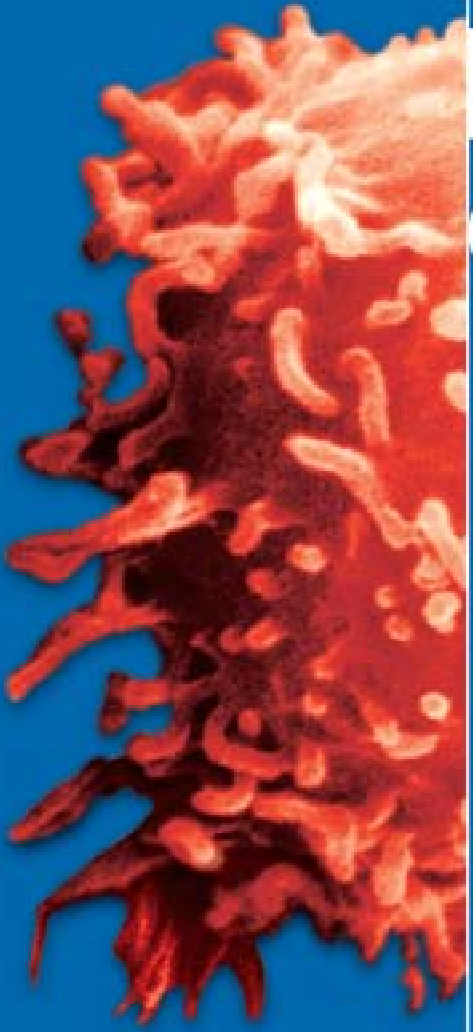
Thomas J. Kindt
Richard A. Goldsby
Barbara A. Osborne



INMUNOLOGÍA de Kuby

Sexta edición

VISIT…

LANZAROTE
Caliente.com

INMUNOLOGÍA
de Kuby

Iconos usados en este libro

Péptido antigénico

Receptor de célula T

CD4

MHC clase I

Citocina

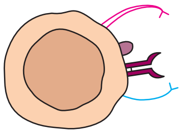
Anticuerpo

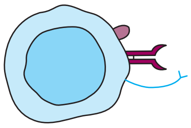
CD3

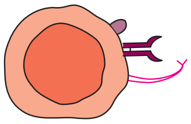
CD8

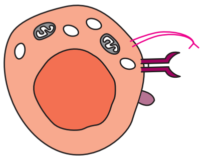
MHC clase II

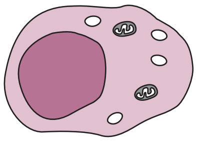
Receptor de citocina

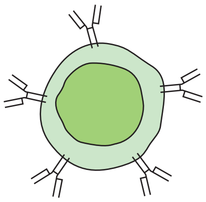

Timocito inmaduro

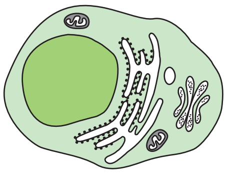

Célula T_H

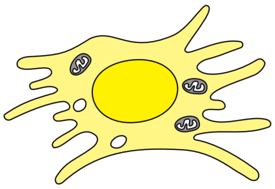

Célula T_C

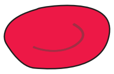

Célula T citotóxica

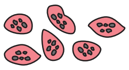

Célula asesina natural

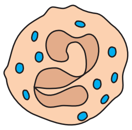

Célula B

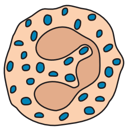

Célula plasmática

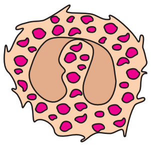

Célula estromática de la médula ósea

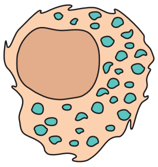

Eritrocito

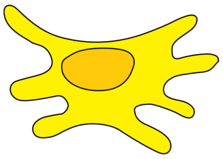

Plaquetas

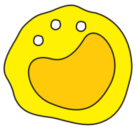

Neutrófilo

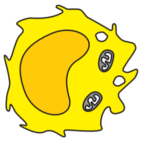

Basófilo

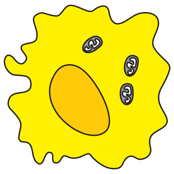

Eosinófilo

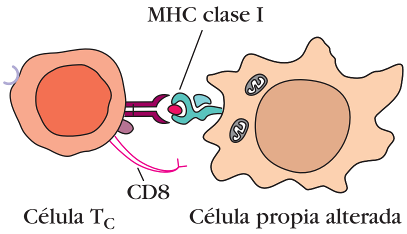

Mastocito

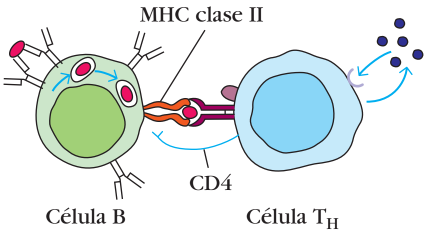

Célula dendrítica


Monocito


Macrófago

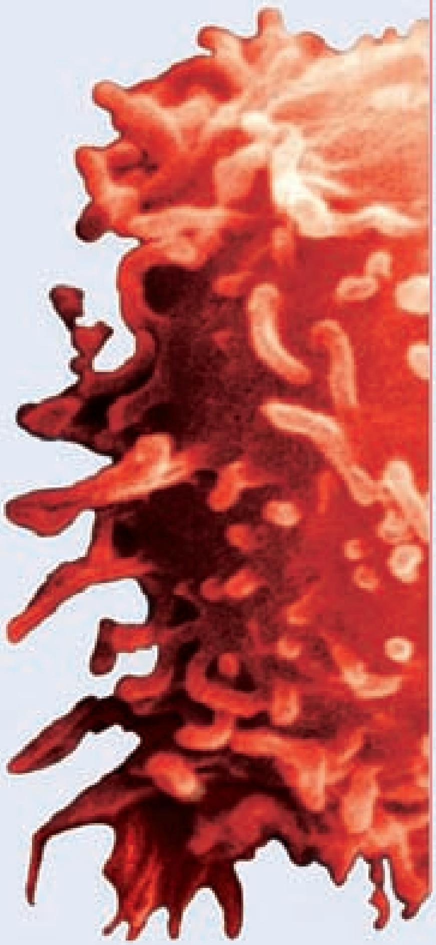

Célula presentadora de antígeno


MHC clase I
CD8
Célula T_C
Célula propia alterada


MHC clase II
CD4
Célula B
Célula T_H

INMUNOLOGÍA
de Kuby

SEXTA EDICIÓN



Thomas J. Kindt
National Institutes of Health

Richard A. Goldsby
Amherst College

Barbara A. Osborne
University of Massachusetts at Amherst

Traducción:
Roberto Palacios Martínez
Universidad Autónoma de Baja California

Mc Graw Hill

MÉXICO • BOGOTÁ • BUENOS AIRES • CARACAS • GUATEMALA • LISBOA
MADRID • NUEVA YORK • SAN JUAN • SANTIAGO
SAO PAULO • AUCKLAND • LONDRES • MILÁN • MONTREAL • NUEVA DELHI
SAN FRANCISCO • SINGAPUR • ST. LOUIS • SIDNEY • TORONTO

Editor sponsor: Javier de León Fraga
Corrección de estilo: Roberto Palacios Martínez
Supervisor de edición: Camilo Heras Martínez
Supervisora de producción: Ángela Salas Cañada
Composición y formación: Ediciones y Recursos Tecnológicos, S.A. de C.V.
Diseño de portada: Impulso Creativo Publicidad y Diseño, S.C.

NOTA

La medicina es una ciencia en constante desarrollo. Conforme surjan nuevos conocimientos, se requerirán cambios de la terapéutica. El (los) autor(es) y los editores se han esforzado para que los cuadros de dosificación medicamentosa sean precisos y acordes con lo establecido en la fecha de publicación. Sin embargo, ante los posibles errores humanos y cambios en la medicina, ni los editores ni cualquier otra persona que haya participado en la preparación de la obra garantizan que la información contenida en ella sea precisa o completa, tampoco son responsables de errores u omisiones, ni de los resultados que con dicha información se obtengan. Convendría recurrir a otras fuentes de datos, por ejemplo, y de manera particular, habrá que consultar la hoja informativa que se adjunta con cada medicamento, para tener certeza de que la información de esta obra es precisa y no se han introducido cambios en la dosis recomendada o en las contraindicaciones para su administración. Esto es de particular importancia con respecto a fármacos nuevos o de uso no frecuente. También deberá consultarse a los laboratorios para recabar información sobre los valores normales.

INMUNOLOGÍA de Kuby

Prohibida la reproducción total o parcial de esta obra,
por cualquier medio, sin autorización escrita del editor.

Mc Graw Hill **McGraw-Hill Interamericana**

DERECHOS RESERVADOS © 2007, respecto a la segunda edición en español por
McGRAW-HILL INTERAMERICANA EDITORES, S.A. de C.V.
A subsidiary of *The McGraw-Hill Companies, Inc.*
Prolongación Paseo de la Reforma 1015, Torre A, Piso 17, Col. Desarrollo Santa Fe,
Delegación Álvaro Obregón
C. P. 01376, México, D. F.
Miembro de la Cámara Nacional de la Industria Editorial Mexicana, Reg. núm. 736

ISBN 13: 978-970-10-6454-2
ISBN 10: 970-10-6454-2

Translated from the sixth english edition of *Kuby Immunology*
Copyright © 2007, 2003, 2000, 1997, 1994, 1992 by W.H. Freeman and Company.
All Rights Reserved

ISBN 13: 978-1-4292-0211-4
ISBN 10: 1-4292-0211-4

1234567890 09865432107

Impreso en México Printed in Mexico

Comité asesor para la revisión científica de la edición en español

Dra. Alicia del Toro Arreola
Doctora en Ciencias Biomédicas, Orientación en Inmunología,
Centro Universitario de Ciencias de la Salud de la
Universidad de Guadalajara.

Dra. Susana del Toro Arreola
Doctora en Ciencias de la Salud, Orientación Biomédica,
Centro Universitario de Ciencias de la Salud de la
Universidad de Guadalajara.
Profesor Investigador Titular C
Centro Universitario de Ciencias de la Salud
Universidad de Guadalajara.

Dra. Trinidad García Iglesias
Doctora en Inmunología
Centro Universitario en Ciencias de la Salud de la
Universidad de Guadalajara.
Profesora de Bioquímica en el Centro Universitario de Ciencias
de la Salud de la Universidad de Guadalajara.
Miembro de Biólogos Colegiados de Jalisco A.C.

Dra. Cecilia Magdalena Guillén Vargas
Doctora en Inmunología y Profesora Investigadora Titular A
de la Universidad de Guadalajara, Centro Universitario de
Ciencias de la Salud, Departamento de Fisiología.

Dra. Ana Molina Ocaña
Doctora en Ciencias Biológicas
Investigadora y Docente en la Sección de Inmunopatología
Experimental e Inmunoquímica de Investigación,
Hospital Ramón y Cajal (Madrid).
Investigadora y Docente en el Department of Nutritional
Chemistry, School of Medicine, University of Tokushima
(Japón).
Investigadora y Docente en el Área de Inmunología,
Facultad de Biología, Universidad de Vigo (Pontevedra).
Miembro de la Sociedad Española de Inmunología (SEI).

Dr. Saturnino Muñoz Martínez
Doctor en Ciencias Biológicas
Investigador y Docente en la Sección de Inmunopatología
Experimental e Inmunoquímica de Investigación,
Hospital Ramón y Cajal (Madrid).
Investigador y Docente en el Department of Nutritional
Chemistry, School of Medicine, University of Tokushima
(Japón).
Investigador y Docente en el Área de Inmunología,
Facultad de Biología, Universidad de Vigo (Pontevedra).
Miembro de la Sociedad Española de Inmunología (SEI).

Dr. Pedro Ernesto Sánchez Hernández
Doctor en Ciencias Biomédicas con orientación a inmunología
Centro Universitario de Ciencias de la Salud – Centro
Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias
de la Universidad de Guadalajara.
Profesor de Inmunología del Centro Universitario de Ciencias
de la Salud de la Universidad de Guadalajara.

ACERCA DE LOS AUTORES

De izquierda a derecha: *Richard A. Goldsby, Barbara A. Osborne y Thomas J. Kindt*

Thomas J. Kindt es requerido con regularidad como consultor en temas de inmunología y enfermedades infecciosas por organizaciones gubernamentales y privadas, y ha fungido por muchos años como director de investigación intramuros en el National Institute of Allergy and Infectious Diseases de los National Institutes of Health, un cargo que lo mantiene en contacto diario con la vanguardia de la inmunología clínica y experimental. Es profesor adjunto en el Departamento de Biología de la University of New Mexico y pertenece a la Regional Association of Medical and Biological Organizations con sede en New Mexico.

Richard A. Goldsby enseña inmunología a estudiantes de licenciatura y posgrado en el Amherst College. Sus intereses en la investigación incluyen tecnologías para generar anticuerpos humanos y sometidos a ingeniería genética en biorreactores animales. En muchas ocasiones ha sido director de curso en el Chautauqua Short Course Program de la National Science Foundation, donde presenta los avances vigentes en la inmunología a profesores universitarios.

Barbara A. Osborne, de la University of Massachusetts at Amherst, es una contribuyente reconocida en las áreas rápidamente cambiantes de muerte celular programada y desarrollo de reacciones de células T. Investigadora muy activa, Barbara también imparte cursos de inmunología a estudiantes de licenciatura y posgrado.

Janis Kuby, quien murió en 1997, enseñó en la San Francisco State University y en la University of California at Berkeley. La profesora Kuby fue quien inició este libro y es autora de las primeras tres ediciones. Su enseñanza experta y sus habilidades para la escritura hicieron de *Inmunología* el texto más vendido para el curso; su visión de la obra como una forma de combinar el contenido actualizado con un formato accesible y pedagógicamente rico persiste en la nueva edición.

A nuestros muchos alumnos, compañeros y colegas que han hecho
de nuestras carreras en inmunología un tiempo de continua
emoción y alegría.
Esperamos que las generaciones futuras de inmunólogos
encuentren el tema tan satisfactorio como nosotros.

Prefacio

En la segunda edición de *Inmunología*, Janis Kuby escribió: "...el crecimiento continuo de la inmunología es inevitable y desafía tanto a la comunidad médica como a la académica para mantenerse actualizada." Nuestro objetivo con cada nueva edición de *Inmunología* es presentar el conocimiento a una nueva generación de científicos y profesionales médicos. Debemos dar a quienes se aproximan por primera vez al tema un panorama amplio del campo de la inmunología. Tenemos que mantenernos actualizados. Y debemos además introducir los experimentos y modelar los sistemas sobre los cuales se ha construido nuestro conocimiento del sistema inmunitario.

Nuevo capítulo 3: Inmunidad innata

Los medios por los cuales se dedujeron los mecanismos del sistema inmunitario innato y el rápido avance en el conocimiento sobre esta rama de la inmunidad se encuentran entre los desarrollos más impactantes en inmunología desde la edición anterior de este libro. El nuevo capítulo 3, Inmunidad innata, explora el modo en que

- Las actividades de efectores inmunitarios como los receptores de reconocimiento de patrón se integran en la inmunorreacción innata.
- Células, moléculas antimicrobianas solubles y receptores unidos a membrana colaboran para montar un ataque instantáneo contra los agentes infecciosos.
- El sistema inmunitario actúa no sólo como primera línea de defensa, sino también como un activador esencial para el sistema inmunitario adaptativo.
- Los defectos en los componentes del sistema inmunitario innato a menudo dan por resultado reacciones débiles o inadecuadas del sistema inmunitario adaptativo.

Hincapié en la pertinencia clínica

Una inmunorreacción deficiente o excesiva puede tener consecuencias nefastas. Es fundamental que quienes estén interesados en seguir carreras médicas comprendan el funcionamiento de este sistema. En todo el libro se cubre una amplia gama de enfermedades e infecciones nuevas, y se actualizan los ensayos Enfoque clínico y sus correspondientes Preguntas de estudio al final del capítulo. En esta edición se incorporan:

- Explicación de la presentación cruzada en lo que se refiere a inmunidad a virus y otros agentes infecciosos (cap. 8).

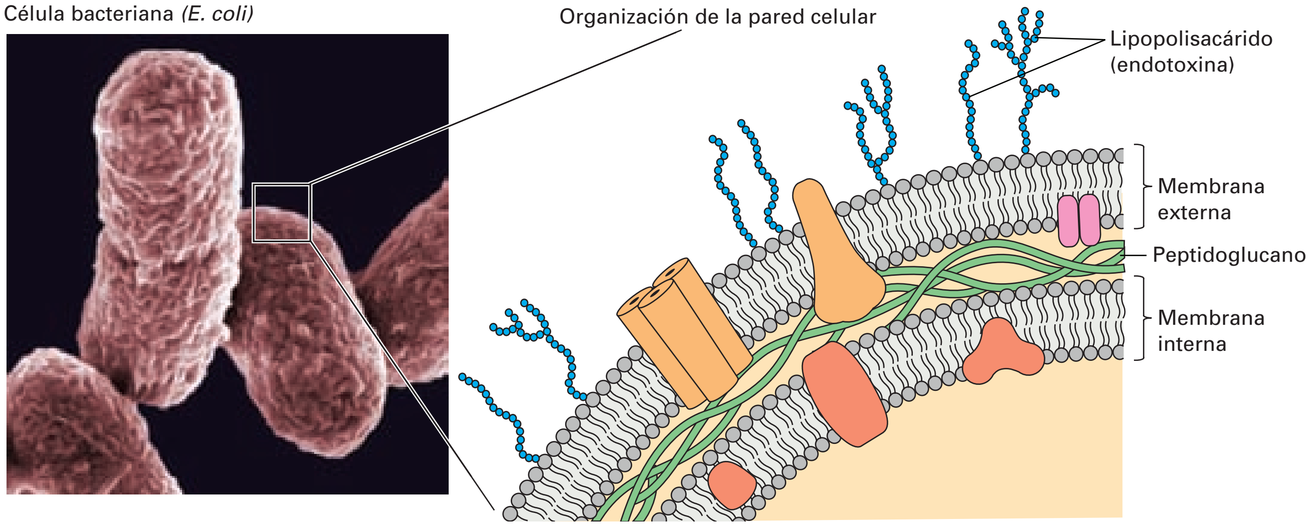

Célula bacteriana *(E. coli)*
Organización de la pared celular
Lipopolisacárido (endotoxina)
Membrana externa
Peptidoglucano
Membrana interna

FIGURA 3-9 **Lipopolisacárido (LPS) en la pared celular de *E. coli*.** El LPS es un potente estímulo de la inmunidad innata. *[Micrografía de Gary Gaugler/Visuals Unlimited.]*

- Una exposición más amplia de las citocinas y su cometido en inflamación y enfermedad (cap. 12 en adelante).
- Últimos descubrimientos sobre la diversidad de receptores de célula NK y el modo en que su variabilidad genética influye en la susceptibilidad a enfermedades (cap. 14).
- Nuevo ensayo Enfoque clínico sobre la influencia de KIR/MHC en la enfermedad (cap. 14).
- Nueva cobertura de la tolerancia central y periférica y el modo en que se relacionan con enfermedad autoinmunitaria y rechazo de aloinjertos (cap. 16).
- Nuevas exposiciones sobre métodos para aliviar el sufrimiento causado por diversos trastornos de autoinmunidad como esclerosis múltiple, lupus eritematoso y enfermedad de Crohn (cap. 16).
- Cobertura del uso clínico creciente de los anticuerpos monoclonales como agentes terapéuticos (caps. 4, 5, 6, 16, 17 y otros).
- Mayor cobertura de enfermedades infecciosas, incluyendo descripciones de grupos de patógenos importantes y las inmunorreacciones características que provocan; material actualizado sobre gripe, incluidas las cepas aviares y las amenazas que representan para las poblaciones humanas; y por qué las enfermedades micóticas han aumentado en grado significativo debido a la propagación del SIDA y al aumento de la cantidad de personas que toman medicamentos contra enfermedades autoinmunitarias (cap. 18).
- Cobertura del SARS, incluidos el descubrimiento y la determinación del modo en que saltó de los animales al ser humano (caps. 18 y 19).
- Nuevos datos sobre consecuencias del SIDA (cap. 20).
- Informe sobre la relación entre el virus del papiloma humano (HPV) y el cáncer cervicouterino, los ensayos de vacunas para su prevención, y un nuevo Enfoque clínico donde se examinan más a fondo estos descubrimientos (cap. 21).

Mayor cobertura sobre señalización

En los últimos pocos años ha habido un gran avance en el conocimiento sobre los procesos que ocurren después de que los receptores se unen a sus ligandos. Ahora se dedica una sección a presentar el tema general de la transducción de señales, donde se resume el patrón general de señalización y se nombran algunos de los componentes clave más universales. Por ejemplo, se incluyen

- Una nueva sección donde se describe la transducción de señales que sigue a la unión de los receptores tipo Toll con sus ligandos (cap. 3).
- Mayor cobertura de las interacciones moleculares implicadas en la migración y la extravasación celulares (caps. 3 y 13).
- Nuevos detalles sobre las vías de señalización que llevan a maduración, diferenciación y activación de diversos tipos celulares (caps. 10 y 11).
- Mayor cobertura del receptor de célula T $\gamma\delta$, incluida una imagen tridimensional reciente que revela diferencias en el modo en que los receptores de célula T $\gamma\delta$ y $\alpha\beta$ se unen a antígeno (caps. 9 y 10).

Nuevas técnicas

Las siguientes exposiciones de técnicas modernas importantes han producido fascinantes conocimientos nuevos en el campo de la inmunología:

- Descripción de la técnica de **resonancia de plasmones superficiales** y su aplicación a interrogantes básicas en inmunología (cap. 6).
- Uso de **tetrámeros antígeno-MHC marcados** para etiquetar receptores de célula T unidos a membrana (cap. 14).
- Ilustración del poder de la **microscopia bifotónica** para seguir el recorrido de células en un ganglio linfático (caps. 11 y 22).

Organización actualizada

Tras consultar con numerosos profesores de inmunología, en la sexta edición se realizaron los siguientes cambios de organización para mejorar la secuencia de exposición y evitar redundancias:

- Se combinaron los capítulos sobre anticuerpo y antígeno (cap. 4).
- El capítulo acerca del complemento se adelantó, para situarlo inmediatamente después de los capítulos sobre anticuerpo (cap. 7).
- Se combinaron los capítulos de MHC y presentación de antígeno (cap. 8).

Herramientas pedagógicas

Figuras para visualización de conceptos

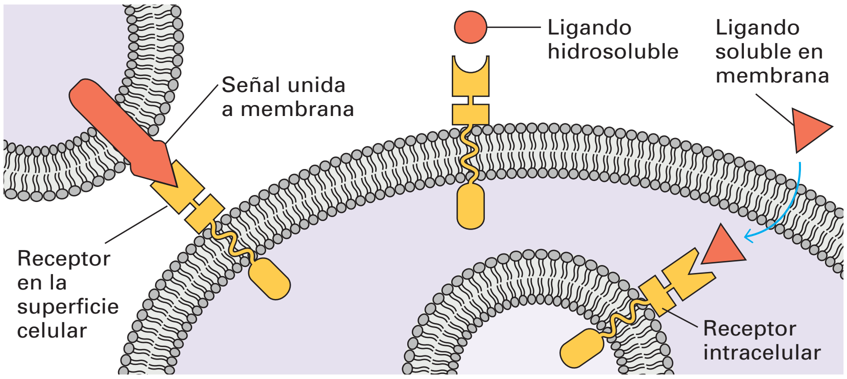
Varios conceptos son especialmente cruciales para que los estudiantes establezcan conocimientos firmes de inmunología. En este libro se emplean imágenes diseñadas de manera específica con este fin, para ayudar a los estudiantes a dominar el material.

- Los conceptos principales se ilustran en **figuras para visualización de conceptos**. Estas figuras resumen ideas y procesos importantes de tal manera que un texto escrito no puede lograr por sí solo; a menudo se disponen como diagramas “de recorrido”, que incluyen leyendas más extensas y sistemáticas que ayudan a visualizar procesos clave.
- Se hace uso consistente de iconos, los cuales representan diversas células del sistema inmunitario y moléculas de membrana importantes, para ayudar a los estudiantes a visualizar relaciones complejas. Estos iconos aparecen al principio del libro en un cuadro, que constituye una guía accesible.

FIGURA 1-6 PARA VISUALIZACIÓN DE CONCEPTOS: Temas comunes en la transducción de señales

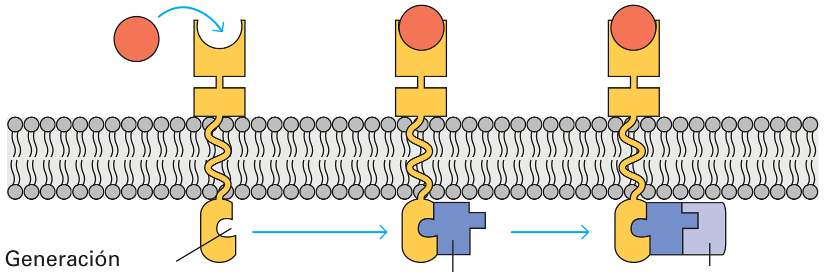
Recepción de la señal

① Las vías de señalización se inician cuando una señal se une a su receptor

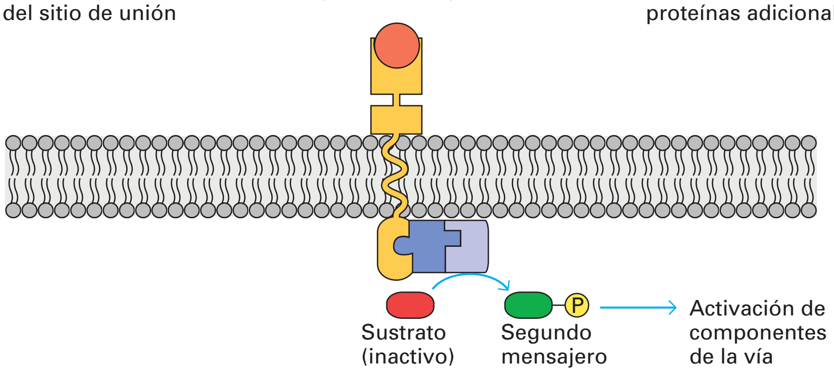

Ligando hidrosoluble
Ligando soluble en membrana
Señal unida a membrana
Receptor en la superficie celular
Receptor intracelular

Transducción

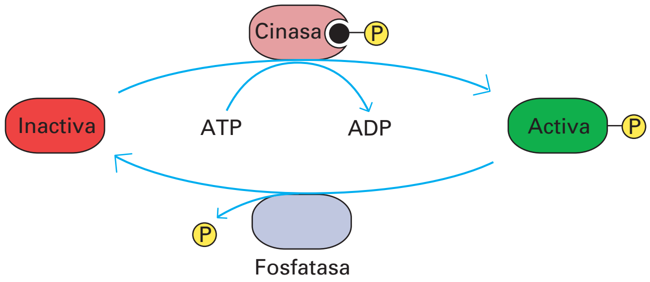
② La unión del ligando al receptor induce el ensamblaje de componentes de la vía de señalización


Generación mediada por señal del sitio de unión
La proteína adaptadora se une
Se unen una o más proteínas adicionales

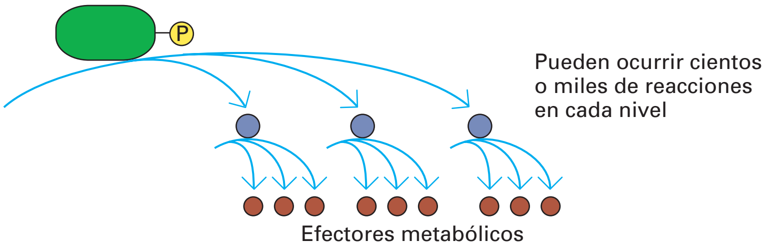
③ La generación de segundo mensajero lleva la señal al interior de la célula


P
Sustrato (inactivo)
Segundo mensajero
Activación de componentes de la vía

④ Los ciclos de fosforilación/desfosforilación bajo control de la vía de señalización activan/desactivan componentes adicionales de la vía


Cinasa
P
Inactiva
ATP
ADP
Activa
P
P
Fosfatasa

⑤ Cascadas enzimáticas amplifican la señal, convirtiendo moléculas a sus formas activas


P
Pueden ocurrir cientos o miles de reacciones en cada nivel
Efectores metabólicos

Preguntas de estudio

Ideadas por Janis Kuby, las Preguntas de estudio de *Inmunología* han demostrado ser un valioso recurso para instructores y estudiantes por igual. En todos los capítulos de la sexta edición se presentan preguntas nuevas y revisadas, incluida una serie totalmente nueva titulada **Analice los datos**, donde se utilizan bibliografía moderna y datos cuantitativos, y se desafía a los estudiantes a extrapolar información con las herramientas adquiridas en el estudio del texto. Las preguntas se complementan con respuestas ampliadas y actualizadas como material de respaldo al final del libro.

Reconocimientos

Debemos un agradecimiento especial a varios colegas que ayudaron a realizar complejas revisiones y que realizaron lecturas detalladas, todo lo cual desembocó en grandes mejoras al texto. Entre estos notables contribuyentes se incluyen los doctores J. Donald Capra y Kendra White de la Oklahoma Medical Research Foundation, la doctora JoAnn Meerschaert de la Saint Cloud State University, el doctor Jiri Mestecky de la University of Alabama at Birmingham, el doctor Jonathan Yewdell de NIAID, NIH, el doctor James Kindt de la Emory University, la doctora Johnna Wesley de la Brown University, y el doctor Eric Long de NIAID, NIH. Esperamos que el producto final refleje la alta calidad de lo aportado por estos expertos y por todos aquellos que se enumeran más adelante, que proporcionaron ideas críticas y orientación.

También deseamos expresar nuestra gratitud y aprecio a la doctora JoAnn Meerschaert de la Saint Cloud State University por haber escrito excelentes problemas nuevos, y al doctor Stephen K. Chapes, de la Kansas State University, por crear las preguntas de la sección Analice los datos.

Agradecemos a los siguientes revisores sus comentarios y sugerencias acerca del manuscrito durante la elaboración de esta sexta edición. Su maestría y su agudeza contribuyeron enormemente a este libro.

Ruth D. Allen, Indiana University-Purdue University Indianapolis
Avery August, The Pennsylvaia State University
Pamela J. Baker, Bates College
Kenneth J. Balazovich, University of Michigan
Cynthia L. Baldwin, University of Massachusetts Amherst
Scott R. Barnum, University of Alabama, Birmingham
Stephen H. Benedict, University of Kansas
Earl F. Bloch, College of Medicine Howard University
Lisa Borghesi, University of Pittsburgh
Lauren Brossay, Brown University
Jane Bruner, California State University, Stanislaus
James W. Campbell, Rice University
Stephen Keith Chapes, Kansas State University
Koteswara R. Chintalacharuvu, UCLA
Jefrey R. Dawson, Duke University, School of Medicine
Janet M. Decker, University of Arizona
Michael Edidin, The Johns Hopkins University
Sherry D. Fleming, Kansas State University
Scott C. Garman, University of Massachusetts, Amherst
Elizabeth Godrick, Boston University
Sandra O. Gollnick, Roswell Park Cancer Institute
Hans W. Heidner, The University of Texas at San Antonio
Vincent W. Hollis, Jr., Howard University
W. Martin Kast, University of Southern California
Dennis J. Kitz, Southern Illinois University, Edwardsville
Katherine L. Knight, Loyola University
Paul M. Knopf, Brown University
Kay K. Lee-Fruman, California State University, Long Beach
Alan D. Levine, Case Western Reserve University
Judith Manning, University of Wisconsin School of Medicine
James A. Marsh, Cornell University College of Veterinary Medicine
John Martinko, Southern Illinois University Carbondale
Andrea M. Mastro, The Pennsylvania State University
Jennifer M. Mataraza, Boston College
Dennis W. McGee, Binghamton University
JoAnn Meerschaert, Saint Cloud State University
Jiri Mestecky, University of Alabama, Birmingham
Michael F. Minnick, University of Montana
Thomas W. Molitor, University of Minnesota, College of Veterinary Medicine
David M. Mosser, University of Maryland
Rita B. Moyes, Texas A&M University
Philip C. Nelson, University of Pennsylvania
Alma Moon Novotny, Rice University
Kim O'Neill, Brigham Young University
Luke O'Neill, Trinity College, Dublin, Ireland
Leonard D. Pearson, Colorado State University
Christopher A. Pennel, University of Minnesota
Wendy R. Raymond, Williams College
Robert C. Rickert, University of California, San Diego
Kenneth H. Roux, Florida State University
Abhineet Sheoran, Tufts Cummings School of Veterinary Medicine
Michail Sitkovsky, Northeastern University
Robert C. Sizemore, Alcorn State University
Gary Splitter, University of Wisconsin, Madison
Douglas A. Steeber, University of Wisconsin, Milwaukee
Lisa Steiner, Massachusetts Institute of Technology
Jeffrey L. Stott, University of California, Davis School of Veterinary Medicine
Denise G. Wingett, Boise State University
Jon Yewdell, NIH-NIAID
Kirk Ziegler, Emory University School of Medicine

Asimismo, deseamos dar las gracias a nuestros experimentados y talentosos colegas de W. H. Freeman and Company. Nuestro agradecimiento en especial a Kate Ahr, Georgia Lee Hadler, Karen Taschek, Vicki Tomaselli, Paul Rohloff, Susan Timmins, Ted Szczepanski, Hannah Thonet y Nick Tymoczko. La ejecución de este trabajo no habría sido posible sin la férrea determinación de nuestro editor de desarrollo, Morgan Ryan, quien nos ayudó a ilustrar la historia de la inmunología.

Contenido resumido

PARTE I Introducción

1 Panorama general del sistema inmunitario 1
2 Células y órganos del sistema inmunitario 23
3 Inmunidad innata 52

PARTE II Respuestas de las células B y T

4 Antígenos y anticuerpos 76
5 Organización y expresión de los genes de inmunoglobulina 111
6 Interacciones antígeno-anticuerpo: principios y aplicaciones 145
7 Sistema del complemento 168
8 Complejo mayor de histocompatibilidad y presentación de antígeno 189
9 Receptor de célula T 223
10 Maduración, activación y diferenciación de la célula T 245
11 Generación, activación y diferenciación de la célula B 271

PARTE III Mecanismos inmunoefectores

12 Citocinas 302
13 Activación y migración de leucocitos 327
14 Reacciones citotóxicas mediadas por células 351
15 Reacciones de hipersensibilidad 371
16 Tolerancia y autoinmunidad 401

PARTE IV El sistema inmunológico en la salud y la enfermedad

17 Inmunología de los trasplantes 425
18 Inmunorreacción a las enfermedades infecciosas 447
19 Vacunas 475
20 SIDA y otras inmunodeficiencias 493
21 Cáncer y sistema inmunitario 525
22 Sistemas experimentales 546

Apéndice I: Antígenos CD A-1
Apéndice II: Citocinas A-27
Glosario G-1
Respuestas a las preguntas de estudio R-1
Índice alfabético I-1

Contenido

Prefacio viii

PARTE I Introducción

1 Panorama general del sistema inmunitario 1

Perspectiva histórica 2

Los estudios pioneros sobre la vacunación abrieron el campo para la inmunología 2
La vacunación es una tarea continua a nivel mundial 3

Primeros estudios sobre inmunidad humoral y celular 4

Desafíos teóricos 5

Infección e inmunidad 7

Inmunidad innata y adaptativa 8

Las células fagocíticas constituyen una barrera contra las infecciones 9
Algunas moléculas solubles contribuyen a la inmunidad innata 9
La colaboración entre la inmunidad innata y la adaptativa incrementa la inmunorreactividad 9
La inmunidad adaptativa es altamente específica 10
Linfocitos y células presentadoras de antígeno cooperan en la inmunidad adaptativa 12
Las células presentadoras de antígeno interactúan con células T 14
Las inmunorreacciones humoral y celular tienen distintas funciones efectoras 14
Los receptores de antígeno de los linfocitos B y T son diversos 14
Las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad unen péptidos antigénicos 16
La selección de antígeno por los linfocitos causa expansión clonal 16

Disfunción inmunitaria y sus consecuencias 18

ENFOQUE CLÍNICO Alergia y asma como problemas graves de salud pública 20

2 Células y órganos del sistema inmunitario 23

Hematopoyesis 23

La hematopoyesis se regula a nivel genético 24
En la hemostasia hematopoyética intervienen muchos factores 26
La muerte celular programada es un mecanismo homeostático esencial 26
Las células madre hematopoyéticas pueden enriquecerse 28

Células del sistema inmunitario 30

Células linfoides 30

ENFOQUE CLÍNICO Células madre: usos clínicos y potencial 32

Linfocitos B (células B) 34
Linfocitos T (células T) 34
Las poblaciones de células B y T comprenden subpoblaciones de clonas 35
Células asesinas naturales 35
Fagocitos mononucleares 36
La fagocitosis es seguida de la digestión y presentación de antígeno 36
Células granulocíticas 37
Células cebadas 38
Células dendríticas 38
Células dendríticas foliculares 40

Órganos del sistema inmunitario 40

Órganos linfoides primarios 40
Órganos linfoides secundarios 43

Células y órganos linfoides: comparaciones evolutivas 49

3 Inmunidad innata 52

Barreras anatómicas 53

Conexiones entre la inmunidad innata y la adaptativa 55

Inflamación 57

La extravasación leucocitaria es un proceso altamente regulado de múltiples pasos 59

Moléculas solubles y receptores relacionados con membrana 59

Los péptidos antimicrobianos contribuyen a la defensa innata contra bacterias y hongos 59
Las proteínas de la reacción de fase aguda contribuyen a la inmunidad innata 61
La inmunidad innata utiliza diversos receptores para detectar infección 61

Receptores tipo Toll 62
Tipos celulares de inmunidad innata 65
Los neutrófilos se especializan en fagocitosis y matanza 65
ENFOQUE CLÍNICO La proteína C reactiva es un marcador clave de riesgo cardiovascular 66
Los macrófagos despliegan varios recursos contra los patógenos 66
Las células NK son una importante primera línea de defensa contra los virus y constituyen una señal de activación clave para otras células 68
Las células dendríticas atacan patógenos e invocan inmunorreacciones adaptativas al activar células T 68
Vías de transducción de señales 69
La señalización por TLR es típica de las vías de transducción de señales 69
Ubicuidad de la inmunidad innata 71

PARTE II Respuestas de las células B y T

4 Antígenos y anticuerpos 76
Inmunogenicidad y antigenicidad 77
Los haptenos son valiosos instrumentos de investigación y diagnóstico 77
Las propiedades del inmunógeno contribuyen a la inmunogenicidad 78
El sistema biológico contribuye a la inmunogenicidad 80
Epítopos 81
Los epítopos de células B tienen propiedades características 81
Estructura básica y función de los anticuerpos 84
Los anticuerpos son heterodímeros 85
Métodos químicos y enzimáticos revelaron la estructura básica del anticuerpo 85
La determinación de las secuencias de la cadena ligera reveló regiones constantes y variables 87
Existen cinco clases principales de cadenas pesadas 87
Las inmunoglobulinas poseen múltiples dominios con base en el plegamiento de la inmunoglobulina 87
Sitio de unión de anticuerpos 89
Las CDR unen antígeno 90
La unión de antígeno puede inducir cambios conformacionales 92
Dominios de región constante 93
Funciones efectoras mediadas por anticuerpo 94
El anticuerpo promueve la opsonización 94
Los anticuerpos activan el complemento 95
La citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo (ADCC) destruye otras células 95
Algunos anticuerpos pueden cruzar capas epiteliales por transcitosis 95
Clases de anticuerpos y actividades biológicas 95
Inmunoglobulina G (IgG) 95
Inmunoglobulina M (IgM) 96
ENFOQUE CLÍNICO Terapéutica pasiva con anticuerpo 98
Inmunoglobulina A (IgA) 99
Inmunoglobulina E (IgE) 100
Inmunoglobulina D (IgD) 100
Determinantes antigénicos en inmunoglobulinas 100
Isotipo 101
Alotipo 101
Idiotipo 101
Receptor de célula B 102
Los receptores Fc se enlazan con regiones Fc de anticuerpos 102
Superfamilia de las inmunoglobulinas 103
Anticuerpos monoclonales 105
Los anticuerpos monoclonales tienen usos clínicos importantes 106
Las abzimas son anticuerpos monoclonales que catalizan reacciones 106

5 Organización y expresión de los genes de inmunoglobulina 111
Diseño de un modelo genético compatible con la estructura de la inmunoglobulina 112
Modelos de línea germinal y de variación somática propuestos para explicar la diversidad de anticuerpos 113
Dreyer y Bennett propusieron un revolucionario modelo de dos genes-un polipéptido 113
La bomba de Tonegawa: los genes de la inmunoglobulina se reordenan 114
Organización multigénica de genes de inmunoglobulina 115
Cada familia multigénica tiene características distintas 115
Familia multigénica de la cadena pesada 115
Reordenamientos génicos de región variable 116
El DNA de la cadena ligera experimenta reordenamientos VJ 117
El DNA de cadena pesada experimenta reordenamientos VDJ 118
Mecanismo de los reordenamientos de DNA de región variable 119
Secuencias señal dirigen la recombinación 119
Los segmentos génicos se unen mediante recombinasas 119
Los reordenamientos del gen de inmunoglobulina (Ig) pueden ser productivos o improductivos 121

La exclusión alélica asegura la especificidad antigénica única 121

Generación de diversidad de anticuerpos 123

Existen numerosos segmentos génicos V, D y J de la línea germinal 123
La unión combinatoria VJ y VDJ genera diversidad 123
La flexibilidad de unión contribuye a la diversidad 123
La adición P añade diversidad a secuencias palindrómicas 125
La adición N promueve una considerable diversidad por la agregación de nucleótidos 125
La hipermutación somática agrega diversidad en segmentos génicos ya reordenados 125
Un origen último de la diversidad es la asociación combinatoria de cadenas pesada y ligera 127
La diversificación de los genes de inmunoglobulina difiere entre las especies 127

Cambio de clase entre genes de la región constante 128

La desaminasa de citidina inducida por activación (AID) media tanto la hipermutación somática como el cambio de clase 128

Expresión de genes de inmunoglobulina 130

Los transcritos primarios de cadena pesada experimentan procesamiento diferencial del RNA 130

Síntesis, ensamblaje y secreción de inmunoglobulinas 133

Regulación de la transcripción de genes de inmunoglobulina 133

El reordenamiento del DNA acelera en gran medida la transcripción 135
En las células T está inhibida la expresión de los genes de inmunoglobulina 135

Genes de anticuerpos e ingeniería de anticuerpos 136

Los anticuerpos monoclonales quiméricos y humanizados poseen un gran potencial clínico 136
Se han creado ratones con loci de inmunoglobulina humana 137
Las bibliotecas de exhibición en fago permiten producir anticuerpos monoclonales sin necesidad de inmunización 137
ENFOQUE CLÍNICO Terapéutica del linfoma no Hodgkin y otras enfermedades mediante anticuerpos elaborados por ingeniería genética 140

6 Interacciones antígeno-anticuerpo: principios y aplicaciones 145

Potencia de las interacciones antígeno-anticuerpo 145

La afinidad de anticuerpo es una medida cuantitativa de la fuerza de la unión 145
La avidez del anticuerpo incorpora la afinidad de múltiples sitios de unión 148

Reactividad cruzada 149

Resonancia de plasmones superficiales 149

La SPR puede usarse para caracterizar las especificidades de epítopo de grupos de anticuerpos 150

Reacciones de precipitación 151

Las reacciones de precipitación en gel producen líneas de precipitina visibles 151
La inmunoelectroforesis combina electroforesis e inmunodifusión doble 152

Reacciones de aglutinación 153

La hemaglutinación se utiliza en la tipificación sanguínea 153
La aglutinación bacteriana se emplea para diagnosticar infecciones 154
La aglutinación pasiva es útil con antígenos solubles 154
En la inhibición de la aglutinación, la ausencia de aglutinación es diagnóstica de antígeno 154

Radioinmunoensayo 154

Ensayo de inmunosorbente ligado a enzima 155

Existen múltiples variantes de ELISA 155

Western blotting 158

Inmunoprecipitación 158

Inmunofluorescencia 160

Citometría de flujo y fluorescencia 161

Alternativas a las reacciones antígeno-anticuerpo 162

ENFOQUE CLÍNICO Citometría de flujo y tipificación de leucemias 163

Microscopia inmunoelectrónica 164

7 Sistema del complemento 168

Funciones del complemento 168

Componentes del complemento 169

Activación del complemento 169

La vía clásica se inicia con la unión de antígeno y anticuerpo 170
La vía alterna es independiente de anticuerpo 173
La vía de lectina se inicia con la unión de proteínas del hospedador a superficies microbianas 175
Las tres vías del complemento convergen en el complejo de ataque a membrana 175

Regulación del sistema del complemento 177

Consecuencias biológicas de la activación del complemento 180

El complejo de ataque a membrana puede lisar una amplia gama de células 180
Los productos de escisión de componentes del complemento median la inflamación 182

ENFOQUE CLÍNICO Hemoglobinuria paroxística nocturna: un defecto de la regulación de la lisis por complemento 183
La unión de C3b y C4b facilita la opsonización 184
El sistema del complemento también neutraliza la infectividad vírica 184
El sistema del complemento depura inmunocomplejos de la circulación 185
Deficiencias de complemento 185

8 Complejo mayor de histocompatibilidad y presentación de antígeno 189

Organización general y herencia del MHC 190
El MHC codifica tres clases de moléculas principales 190
Las formas alélicas de los genes MHC se heredan en grupos unidos llamados haplotipos 191
Las cepas endogámicas de ratón han sido de utilidad en el estudio del MHC 193
Moléculas y genes MHC 193
Las moléculas clase I tienen una cadena pesada de glucoproteína y una cadena ligera proteínica pequeña 193
Las moléculas clase II tienen dos cadenas glucoproteínicas distintas 195
La disposición de exones e intrones en los genes clase I y clase II refleja su estructura de dominio 196
Las moléculas clase I y clase II muestran polimorfismo en la región que se une a péptidos 197
Las moléculas clase I y clase II muestran diversidad dentro de una especie, y se presentan múltiples formas de ellas en un individuo 199
Mapa genómico detallado de los genes MHC 201
La región de la clase I humana abarca alrededor de 2 000 kb en el extremo telomérico del complejo de antígenos de histocompatibilidad leucocíticos (HLA) 202
Los genes del MHC clase II se localizan en el extremo centromérico del HLA 203
Los genes del MHC clase III del ser humano están entre las clases I y II 203
Expresión celular de moléculas MHC 203
Regulación de la expresión del MHC 204
MHC y susceptibilidad a enfermedades 205
MHC e inmunorreactividad 206
Restricción de células T a MHC propio 207
Función de las células presentadoras de antígeno 207
Es necesario que el antígeno sea procesado para que las células T lo reconozcan 208
La mayoría de las células puede presentar antígeno con MHC clase I; la presentación con MHC clase II se restringe a células presentadoras de antígeno (APC) 209
Pruebas de la existencia de diferentes vías de procesamiento y presentación de antígeno 209
Antígenos endógenos: vía citosólica 210
Complejos de proteasa llamados proteasomas generan los péptidos para presentación 211
Los péptidos se transportan del citosol al retículo endoplásmico rugoso 211
Los péptidos se ensamblan con MHC clase I auxiliados por carabinas moleculares 212
ENFOQUE CLÍNICO La deficiencia de transportadores relacionados con la presentación de antígeno (TAP) causa una diversa gama de enfermedades 213
Antígenos exógenos: vía endocítica 214
Los péptidos se generan a partir de moléculas internalizadas en vesículas endocíticas 214
La cadena invariante guía el transporte de moléculas MHC clase II a las vesículas endocíticas 214
Los péptidos se ensamblan con moléculas MHC clase II por desplazamiento de CLIP 215
Presentación cruzada de antígenos exógenos 217
Presentación de antígenos no peptídicos 217

9 Receptor de célula T 223

Primeros estudios sobre el receptor de célula T 223
Experimentos clásicos demostraron la restricción del receptor de célula T al MHC propio 224
El uso de anticuerpos clonotípicos permitió aislar receptores de célula T 224
El gen de la cadena β del TCR se clonó mediante hibridación sustractiva 224
Receptores de célula T αβ y γδ: estructuras y funciones 226
Organización y reordenamiento de los genes del TCR 228
Los genes de la región variable del TCR se reordenan de manera similar a los genes de anticuerpo 229
Mecanismo de los reordenamientos del DNA del TCR 230
Exclusión alélica de los genes de TCR 231
Los genes del TCR reordenados se ensamblan a partir de segmentos génicos V, D y J 232
ENFOQUE CLÍNICO Reordenamientos de células T como marcadores de células cancerosas 231
La diversidad de TCR se genera en forma similar a la diversidad de anticuerpos pero sin mutación somática 232
Complejo receptor de célula T: TCR-CD3 235
Moléculas de membrana accesorias de la célula T 236
Correceptores CD4 y CD8 se unen a regiones conservadas de las moléculas MHC clase II o I 236

La afinidad del TCR por complejos péptido-MHC es intensificada por correceptores 238

Estructuras tridimensionales de complejos TCR-péptido-MHC 240

Los TCR interactúan de manera diferente con moléculas clase I y clase II 241

Alorreactividad de las células T 241

10 Maduración, activación y diferenciación de la célula T 245

Timo y maduración de la célula T 245

Selección tímica del repertorio de células T 248

La selección positiva asegura la restricción en MHC 249
La selección negativa asegura la autotolerancia 250
Algunos experimentos revelaron los elementos esenciales de las selecciones positiva y negativa 250
Algunos temas centrales de la selección tímica aún no se resuelven 251

Activación de la célula T 254

La unión del TCR inicia múltiples vías de señalización 254
¿Cuántos complejos de TCR deben ensamblarse para inducir la activación de la célula T? 258
Para la activación completa de las células T se requieren señales coestimuladoras 259
Cuando no existe una señal coestimuladora se presenta anergia clonal 259
Los superantígenos inducen la activación de células T al unir el TCR y el MHC II de modo simultáneo 260

Diferenciación de la célula T 261

Las células T activadas generan células T efectoras y de memoria 262
Una subpoblación CD4$^+$CD25$^+$ de células T regula de modo negativo las inmunorreacciones 263
Las células presentadoras de antígeno tienen propiedades coestimuladoras características 263

Muerte celular y poblaciones de células T 264

ENFOQUE CLÍNICO La falta de apoptosis causa homeostasis defectuosa de linfocitos 266

11 Generación, activación y diferenciación de la célula B 271

Maduración de la célula B 271

Las células B progenitoras proliferan en la médula ósea 272
El reordenamiento del gen de inmunoglobulina (Ig) produce células B inmaduras 273
Para el desarrollo de la célula B es esencial el receptor de célula pre-B 274
En experimentos de desactivación génica se identificaron factores de transcripción esenciales 275
Los marcadores de superficie celular identifican las etapas del desarrollo 275
Las células B-1 son un subconjunto de células B que se renuevan por sí mismas 275
En la médula ósea se seleccionan negativamente células B autorreactivas 276
Es posible rescatar células B autorreactivas al editar genes de cadena ligera 278

Activación y proliferación de la célula B 278

Los antígenos dependientes e independientes del timo tienen diferentes requerimientos para reaccionar 278
Dos tipos de señales impulsan a las células B hacia el ciclo celular y a través de él 279
La transducción de señales activadoras incluye heterodímeros Ig-α/Ig-β 279
La señalización de células B es iniciada por la unión de antígeno e induce muchas vías de transducción de señales 281
El complejo correceptor de célula B puede intensificar las reacciones de la célula B, y el CD22 es capaz de inhibirlas 281
ENFOQUE CLÍNICO Agammaglobulinemia ligada al sexo: una falla en la transducción de señales y el desarrollo de la célula B 284
Las células T_H tienen acciones esenciales en la mayor parte de las reacciones de la célula B 285
Es posible la selección negativa de células B autorreactivas maduras en la periferia 287

Reacción humoral 289

Las respuestas primaria y secundaria difieren en grado significativo 289
Las células T colaboradoras tienen un papel crítico en la reacción humoral a conjugados de hapteno y portador 290

Sitios in vivo para la inducción de reacciones humorales 292

Centros germinales y diferenciación de la célula B inducida por antígeno 292

La maduración de la afinidad es el resultado de mutaciones y selecciones repetidas 293
Las células B de memoria y las células plasmáticas se generan en centros germinales 296

Regulación de la inmunorreacción efectora 297

Diferentes antígenos pueden competir entre sí 297
La presencia de anticuerpo puede suprimir la reacción al antígeno 297

PARTE III Mecanismos inmunoefectores

12 Citocinas 302

Propiedades de las citocinas 302

Las citocinas pertenecen a cuatro familias estructurales 305

Las citocinas tienen múltiples funciones biológicas 306

Receptores de citocinas 307

Los receptores de citocina pertenecen a cinco familias 308
Las subfamilias de los receptores de citocina clase I tienen en común subunidades de señalización 309
IL-2R es uno de los receptores de citocinas estudiado de modo más extenso 311
Los receptores de citocina inician la señalización 312

Antagonistas de citocinas 314

Secreción de citocinas por los subconjuntos T_H1 y T_H2 314

El desarrollo de los subconjuntos T_H1 y T_H2 depende del ambiente de las citocinas 316
Los perfiles de citocinas son regulados de manera cruzada 317
El balance T_H1/T_H2 determina los resultados finales de una enfermedad 318

Enfermedades relacionadas con citocinas 318

El choque séptico es común y potencialmente letal 318
El choque tóxico bacteriano se debe a superantígenos 319
La actividad de las citocinas se relaciona con los cánceres linfoide y mieloide 319
La enfermedad de Chagas es causada por un parásito 320

Tratamientos basados en citocinas 320

Citocinas en la hematopoyesis 321

ENFOQUE CLÍNICO Terapéutica con interferones 322

13 Activación y migración de leucocitos 327

Moléculas de adhesión celular 327

Quimiocinas 329

Los perfiles de receptores de quimiocina median la actividad de los leucocitos 331

Extravasación de leucocitos: el paradigma de los pasos múltiples 332

Recirculación de linfocitos 334

Extravasación de linfocitos 334

Las vénulas con endotelios altos (endotelios venulares altos, HEV) son sitios de extravasación de linfocitos 334
El direccionamiento (tráfico) de los linfocitos es guiado por perfiles y señales de los receptores 336
Los linfocitos vírgenes recirculan hacia tejido linfoide secundario 336
Los linfocitos efectores y de memoria adoptan patrones de tráfico distintos 337

Otros mediadores de la inflamación 338

La lesión tisular activa el sistema de las cininas 338
El sistema de la coagulación proporciona mediadores de la inflamación generados por la fibrina 338
El sistema fibrinolítico proporciona mediadores de la inflamación generados por la plasmina 338
El sistema del complemento produce anafilatoxinas 338
Algunos lípidos actúan como mediadores de la inflamación 339
Algunas citocinas son mediadores importantes de la inflamación 339

Proceso inflamatorio 340

Los neutrófilos tienen un papel temprano e importante en la inflamación 340
Las reacciones inflamatorias pueden ser localizadas o generalizadas 340
ENFOQUE CLÍNICO Deficiencia de adhesión leucocítica (LAD) en seres humanos y bovinos 343
Se desarrolla inflamación crónica cuando el antígeno persiste 344
Funciones de IFN-γ y TNF-α en la inflamación crónica 344
En enfermedades inflamatorias crónicas se producen estructuras tipo HEV 346

Agentes antiinflamatorios 346

Los tratamientos con anticuerpos reducen la extravasación de leucocitos 346
Los corticosteroides son fármacos antiinflamatorios potentes 347
Los NSAID combaten el dolor y la inflamación 347

14 Reacciones citotóxicas mediadas por células 351

Reacciones efectoras 351

Propiedades generales de las células T efectoras 352

Las necesidades de activación de las células T son diferentes 352
Las moléculas de adhesión celular facilitan las interacciones mediadas por el receptor de célula T (TCR) 352
Las células T efectoras expresan varias moléculas efectoras 353

Células T citotóxicas 353

Los linfocitos T citotóxicos efectores se generan a partir de precursores propios 353
Los linfocitos T citotóxicos $CD8^+$ pueden rastrearse con tecnología de tetrámeros MHC 355
Los linfocitos T citotóxicos (CTL) destruyen células de dos maneras 355

Células asesinas naturales 360

Las células asesinas naturales (NK) y las células T comparten algunas características 361
La destrucción (muerte) por células asesinas naturales es similar a la mediada por linfocitos T citotóxicos 361
Las células asesinas naturales tienen receptores de activación e inhibición 362
ENFOQUE CLÍNICO Combinaciones de genes MHC-KIR influyen en la salud 364

Células NKT 364
Citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo 366
Valoración experimental de la citotoxicidad mediada por células 366
El cultivo concurrente de células T con células extrañas estimula la reacción de linfocitos mixtos 366
Es posible demostrar la actividad de linfocitos T citotóxicos mediante linfólisis mediada por células 367
La reacción de injerto contra hospedador indica citotoxicidad mediada por células 367
15 Reacciones de hipersensibilidad 371
Clasificación de Gell y Coombs 371
Hipersensibilidad mediada por IgE (tipo I) 372
Existen varios componentes comunes de las reacciones tipo I 373
El enlace cruzado de IgE inicia la desgranulación 377
Sucesos intracelulares inducen la desgranulación de los leucocitos 377
Diversos agentes farmacológicos median las reacciones tipo I 379
Las reacciones tipo I pueden ser generales o localizadas 381
Las reacciones de fase tardía inducen inflamación localizada 383
Las reacciones tipo I son reguladas por muchos factores 383
ENFOQUE CLÍNICO Genética del asma 384
Se emplean diversos métodos para identificar las reacciones de hipersensibilidad tipo I 386
Las hipersensibilidades tipo I pueden controlarse por medios médicos 386
Hipersensibilidad citotóxica mediada por anticuerpo (tipo II) 388
Las reacciones transfusionales son tipo II 388
La enfermedad hemolítica del neonato se debe a reacciones tipo II 389
La anemia hemolítica inducida por fármacos es una reacción tipo II 391
Hipersensibilidad mediada por inmunocomplejos (tipo III) 391
Las reacciones tipo III pueden ser localizadas 392
Las reacciones tipo III también pueden ser generalizadas 392
Hipersensibilidad tipo IV o tardía (DTH) 393
Existen diversas fases de la reacción de hipersensibilidad tardía 394
Numerosas citocinas participan en la reacción de hipersensibilidad tardía 395
La reacción de hipersensibilidad tardía se identifica con una prueba cutánea 396
La dermatitis por contacto es un tipo de reacción de hipersensibilidad tardía 396
16 Tolerancia y autoinmunidad 401
Establecimiento y mantenimiento de la tolerancia 402
La tolerancia central limita el desarrollo de células T y B autorreactivas 403
La tolerancia periférica regula las células autorreactivas en circulación 404
Las células T reguladoras son un componente de la tolerancia periférica 406
El secuestro de antígeno es un modo de proteger antígenos propios 407
El fallo de la tolerancia causa autoinmunidad 407
Enfermedades autoinmunitarias específicas de órganos 407
Algunas enfermedades autoinmunitarias son mediadas por lesión celular directa 407
Algunas enfermedades autoinmunitarias son mediadas por autoanticuerpos estimuladores o bloqueadores 409
Enfermedades autoinmunitarias sistémicas 410
El lupus eritematoso sistémico ataca muchos tejidos 410
La esclerosis múltiple ataca el sistema nervioso central 411
La artritis reumatoide ataca las articulaciones 411
Modelos animales de enfermedades autoinmunitarias 411
Los animales pueden desarrollar autoinmunidad de manera espontánea 412
Puede inducirse autoinmunidad de manera experimental en animales 413
Pruebas de la participación de células T CD4$^+$, MHC y TCR en la autoinmunidad 413
Las células T CD4$^+$ y el equilibrio entre las células T$_H$1 y T$_H$2 desempeñan una función importante en la autoinmunidad de algunos modelos animales 414
La autoinmunidad puede relacionarse con MHC o con receptores de células T particulares 414
Mecanismos propuestos para la inducción de autoinmunidad 414
La liberación de antígenos secuestrados puede inducir enfermedad autoinmunitaria 415
ENFOQUE CLÍNICO ¿Por qué las mujeres son más susceptibles que los varones a la autoinmunidad? Diferencias de género en las enfermedades autoinmunitarias 416
El mimetismo molecular puede contribuir a la enfermedad autoinmunitaria 416
Se cuenta con pruebas de imitación entre MBP y péptidos víricos 418
La expresión inapropiada de moléculas MHC clase II puede sensibilizar las células T autorreactivas 418
La activación de las células B policlonales puede ocasionar enfermedad autoinmunitaria 419
Tratamiento de las enfermedades autoinmunitarias 419
El tratamiento de las enfermedades autoinmunitarias del ser humano plantean desafíos especiales 420

La inflamación es un blanco del tratamiento de la autoinmunidad 420
Las células T activadas son un posible blanco terapéutico 421
Los antígenos orales pueden inducir tolerancia 421

PARTE IV El sistema inmunológico en la salud y la enfermedad

17 Inmunología de los trasplantes 425

Bases inmunitarias del rechazo de injertos 426

El rechazo de aloinjertos manifiesta especificidad y memoria 426
Las células T desempeñan una función clave en el rechazo de los aloinjertos 426
Los perfiles antigénicos similares propician la aceptación de los aloinjertos 428
Se determinan los antígenos eritrocíticos y los MHC de los donantes y los receptores de injertos 428
El rechazo de injerto mediado por células se produce en dos etapas 431

Manifestaciones clínicas del rechazo de injertos 433

Los anticuerpos preexistentes en el receptor median el rechazo hiperagudo 433
Reacciones de células T median el rechazo agudo 434
El rechazo crónico ocurre meses o años después del trasplante 434

Tratamiento inmunosupresor general 434

Los inhibidores de la mitosis impiden la proliferación de las células T 434
ENFOQUE CLÍNICO ¿TIENEN FUTURO CLÍNICO LOS XENOTRASPLANTES? 435
Los corticosteroides suprimen la inflamación 436
Algunos metabolitos micóticos son inmunosupresores 436
La radiación linfoide total elimina los linfocitos 436

Tratamiento inmunosupresor específico 436

Los anticuerpos pueden suprimir las reacciones de rechazo de injerto 437
Bloquear las señales coestimuladoras puede inducir anergia 438

Inmunotolerancia a los aloinjertos 439

Los sitios privilegiados aceptan desigualdades antigénicas 439
La exposición temprana a los aloantígenos puede inducir tolerancia específica 439

Trasplante clínico 440

El órgano trasplantado con más frecuencia es el riñón 441
Se practican trasplantes de médula ósea para tratar leucemias, anemias e inmunodeficiencias 441
El trasplante cardíaco es una operación desafiante 442
Los trasplantes de pulmón son cada vez más comunes 442
Los trasplantes de hígado se practican para tratar defectos congénitos y lesiones por agentes víricos o químicos 442
El trasplante de páncreas ofrece una curación de la diabetes mellitus 443
Se emplean injertos cutáneos para tratar a las víctimas de quemaduras 443
El xenotrasplante puede ser la solución ante la escasez de órganos de donante humano 444

18 Inmunorreacción a las enfermedades infecciosas 447

Infecciones víricas 448

Muchos virus son neutralizados por anticuerpos 449
La inmunidad mediada por células es importante para el control y la depuración víricos 450
Los virus pueden evadir los mecanismos de defensa del hospedador 450
La gripe es la causa de algunas de las peores pandemias de la historia 451
La reacción humoral a la gripe es específica de cepa 454
La cepa aviar H5N1 representa una amenaza de pandemia 454

Infecciones bacterianas 455

Las reacciones inmunitarias a las bacterias extracelulares e intracelulares pueden diferir 455
Las bacterias pueden evadir con eficacia los mecanismos de defensa del hospedador 455
Las reacciones inmunitarias pueden contribuir a la patogénesis bacteriana 457
La difteria (*Corynebacterium diphteriae*) puede controlarse mediante inmunización con toxoide desactivado 458
La tuberculosis (*Mycobacterium tuberculosis*) es controlada primordialmente por células T CD4$^+$ 458

Enfermedades parasitarias 460

Las enfermedades por protozoarios afectan a millones de personas en todo el mundo 460
El paludismo (especies de *Plasmodium*) infecta a 600 millones de personas en todo el mundo 460
Dos especies de *Trypanosoma* causan la enfermedad del sueño 462
La leishmaniosis es un modelo útil para demostrar las diferencias en las reacciones del hospedador 462
Diversas enfermedades son causadas por gusanos parásitos (helmintos) 462

Enfermedades micóticas 465

La inmunidad innata controla la mayoría de las infecciones micóticas 466
La inmunidad contra patógenos micóticos puede ser adquirida 466

Enfermedades infecciosas emergentes 467

Las enfermedades pueden resurgir por diversas razones 467
ENFOQUE CLÍNICO AMENAZA DE INFECCIÓN POR AGENTES POTENCIALES DE BIOTERRORISMO 468
Otras enfermedades letales han aparecido recientemente 470
El brote de SARS desencadenó una rápida respuesta internacional 470

19 Vacunas 475

ENFOQUE CLÍNICO Vacunación: desafíos en Estados Unidos y en países en desarrollo 476

Inmunizaciones activa y pasiva 477

La inmunización pasiva consiste en la transferencia de anticuerpos preformados 477
La inmunización activa confiere protección prolongada 478

Diseño de vacunas para inmunización activa 481

Vacunas con microorganismos vivos atenuados 481

Vacunas de microorganismos desactivados o muertos 484

Vacunas subunitarias 484

Algunos toxoides se emplean como vacunas 485
Se usan cápsulas bacterianas de polisacárido como vacunas 485
Podrían elaborarse vacunas con glucoproteínas víricas 485
Por medio de técnicas recombinantes se obtienen proteínas de agentes patógenos 485
El empleo de péptidos sintéticos como vacunas ha progresado con lentitud 485

Vacunas conjugadas 486

Un polisacárido confiere protección contra varios hongos 486
Las vacunas subunitarias multivalentes confieren inmunidad celular y humoral 486

Vacunas de DNA 488

Vacunas con vectores recombinantes 488

20 SIDA y otras inmunodeficiencias 493

Inmunodeficiencias primarias 493

Las inmunodeficiencias linfoides pueden incluir células T, células B o ambas 495
Las inmunodeficiencias del linaje mieloide afectan la inmunidad innata 500
Los defectos del complemento causan inmunodeficiencia o enfermedad por inmunocomplejos 502
Los trastornos de inmunodeficiencia se tratan mediante restitución del elemento defectuoso 502
Los modelos experimentales de inmunodeficiencia incluyen animales alterados por medios genéticos 503

SIDA y otras inmunodeficiencias adquiridas o secundarias 504

La epidemia de VIH/SIDA ha cobrado millones de vidas a nivel mundial 505
El VIH-1 se propaga por contacto sexual, sangre infectada y de madre a hijo 505

ENFOQUE CLÍNICO Prevención de la infección infantil por VIH mediante tratamiento antirretrovírico 507

El retrovirus VIH-1 es el causante del síndrome de inmunodeficiencia adquirida 508
Los estudios in vitro revelaron el ciclo de multiplicación del VIH-1 509
La infección por el VIH-1 propicia infecciones oportunistas 512
Los agentes terapéuticos inhiben la multiplicación de los retrovirus 515
Es posible que una vacuna sea el único medio para detener la epidemia de VIH/SIDA 518

21 Cáncer y sistema inmunitario 525

Cáncer: origen y terminología 525

Transformación maligna de células 526

Oncogenes e inducción de cáncer 527

Los genes relacionados con el cáncer tienen muchas funciones 527
Los protooncogenes pueden convertirse en oncogenes 529
La inducción del cáncer es un proceso de múltiples etapas 530

Tumores del sistema inmunitario 530

Antígenos tumorales 531

Algunos antígenos son específicos de tumor 532

ENFOQUE CLÍNICO Una vacuna que previene el cáncer 534

Los virus pueden inducir antígenos tumorales 535
Pocos antígenos tumorales son exclusivos de células tumorales 536
Los tumores pueden inducir reacciones inmunitarias potentes 537
Células asesinas naturales y macrófagos son importantes en el reconocimiento de tumores 537

Evasión del sistema inmunitario por los tumores 538

Los anticuerpos antitumorales pueden intensificar el crecimiento de los tumores 538
Los anticuerpos pueden modular los antígenos tumorales 538
Las células tumorales expresan con frecuencia concentraciones bajas de moléculas MHC clase I 538
Las células tumorales pueden emitir señales coestimuladoras deficientes 538

Inmunoterapia del cáncer 539

La manipulación de las señales coestimuladoras puede incrementar la inmunidad 539
El incremento de la actividad de células presentadoras de antígeno puede modular la inmunidad tumoral 540
El tratamiento con citocinas puede acentuar las inmunorreacciones a los tumores 540
Los anticuerpos monoclonales son eficaces para tratar ciertos tumores 542

22 Sistemas experimentales 546

Modelos animales experimentales 546

Las cepas endogámicas pueden reducir la variación experimental 547

Los sistemas de transferencia adoptivos permiten el examen in vivo de poblaciones de células aisladas 547

Sistemas de cultivo celular 547

Los cultivos de células linfoides primarias provienen de sangre u órganos linfoides 547
Las líneas celulares linfoides clonadas son herramientas importantes en inmunología 549
Creación de líneas de células linfoides híbridas 550

Bioquímica de proteínas 551

Las técnicas de radiomarcado permiten la identificación sensible de antígenos o anticuerpos 551
Las marcas de biotina facilitan la detección de pequeñas cantidades de proteínas 551
La electroforesis en gel separa las proteínas por tamaño y carga 551
La cristalografía de rayos X ofrece información estructural 553

Tecnología de DNA recombinante 555

Las enzimas de restricción escinden el DNA en secuencias precisas 555
Las secuencias de DNA se clonan en vectores 556
Los vectores de clonación son de utilidad para duplicar secuencias de DNA definidas 556
La clonación del cDNA y el DNA genómico permite el aislamiento de secuencias definidas 556
Las clonas de DNA se seleccionan por hibridación 558
La prueba de Southern blotting identifica el DNA de una secuencia determinada 559
La prueba de Northern blotting identifica mRNA 559
La reacción en cadena de la polimerasa amplifica cantidades pequeñas de DNA 559

Análisis de secuencias reguladoras del DNA 560

El análisis de huellas de DNA identifica los sitios en que se fijan proteínas a éste 560
El análisis de retardo en gel identifica complejos de DNA y proteína 561
Los ensayos de luciferasa miden la actividad transcripcional 562

Transferencia de genes a células de mamífero 562

Los genes clonados transferidos a células cultivadas permiten el análisis in vitro de la función génica 562
Los genes clonados transferidos a embriones de ratón permiten el análisis in vivo de la función génica 563
En los ratones con desactivación génica, el gen seleccionado se daña 564
La tecnología *"knock-in"* permite reemplazar un gen endógeno 565
La selección de genes inducibles por el sistema Cre/*lox* tiene como finalidad la supresión génica 565

Microarreglos: método para analizar patrones de expresión génica 567

ENFOQUE CLÍNICO ANÁLISIS DE MICROARREGLOS COMO INSTRUMENTO DIAGNÓSTICO PARA LAS ENFERMEDADES HUMANAS 568

Microscopia bifotónica para visualización in vivo del sistema inmunitario 570

Avances en la tecnología de fluorescencia 571

Apéndice I: Antígenos CD A-1

Apéndice II: Citocinas A-27

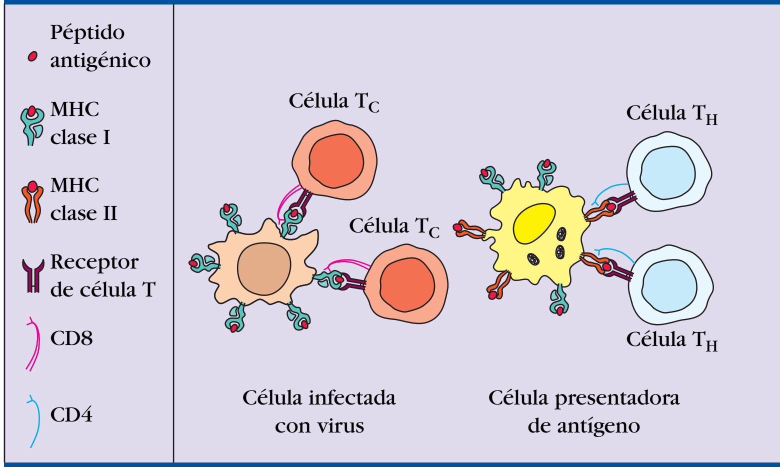
Glosario G-1

Respuestas a las preguntas de estudio R-1

Índice alfabético I-1

capítulo 1

Panorama general del sistema inmunitario



Reconocimiento del complejo antígeno-MHC por el linfocito T.

- Perspectiva histórica
- Primeros estudios sobre inmunidad humoral y celular
- Desafíos teóricos
- Infección e inmunidad
- Inmunidad innata y adaptativa
- Disfunción inmunitaria y sus consecuencias

El sistema inmunitario surgió por evolución para proteger a los organismos multicelulares de los agentes patógenos. Es muy adaptable, y defiende al organismo contra invasores tan diversos como el virus que causa la polio y la planaria que produce la esquistosomiasis. Genera una enorme variedad de células y moléculas capaces de reconocer y eliminar de manera específica invasores extraños. Todas esas células y moléculas actúan en conjunto en una red dinámica.

La protección conferida por el sistema inmunitario puede dividirse en dos actividades vinculadas: reconocimiento y reacción (o respuesta). El reconocimiento inmunitario es notable por su capacidad de distinguir entre invasores extraños y componentes propios. El sistema puede reconocer patrones moleculares que caracterizan a grupos de patógenos comunes y atacarlos de manera rápida y decisiva. Incluso es capaz de detectar diferencias químicas sutiles que distinguen a un patógeno de otro. Encima de todo, puede discriminar entre moléculas extrañas y células y proteínas del cuerpo (discriminación entre propio y extraño). Además, está capacitado para reconocer células propias alteradas que pueden desembocar en cáncer. Típicamente, el reconocimiento de un agente patógeno por el sistema inmunitario activa una **reacción efectora**, que suprime o neutraliza al invasor. Los múltiples componentes del sistema inmunitario son capaces de convertir el suceso de reconocimiento inicial en una variedad de reacciones (respuestas) efectoras, cada una adaptada de manera única para anular un tipo específico de patógeno. Determinadas exposiciones inducen una **reacción de memoria**, caracterizada por una respuesta inmunitaria (inmunorreacción) más rápida e intensa en caso de ataque ulterior. Se trata de la notable propiedad de memoria que impide contraer por segunda vez algunas enfermedades, y la memoria inmunitaria es la base de la vacunación, la cual constituye un medio para “instruir” al sistema inmunitario y prepararlo para ataques posteriores.

Aunque se hace referencia al *sistema* inmunitario, debe señalarse que existen *dos* de ellos, la inmunidad innata y la inmunidad adaptativa (o adquirida), que colaboran para proteger al organismo. La **inmunidad innata** incluye mecanismos moleculares y celulares que se montan antes de una infección y cuyo fin es prevenirla o eliminarla. Esta primera línea de defensa altamente eficaz impide la mayoría de las infecciones desde el principio o las anula en las horas que siguen a su contacto con el sistema inmunitario innato. Los elementos de reconocimiento de este sistema distinguen de manera precisa entre lo propio y lo extraño, pero no están especializados para distinguir diferencias pequeñas en las moléculas extrañas. Una segunda forma de inmunidad, conocida como **inmunidad adaptativa**, se establece en respuesta a las infecciones y se adapta para reconocer, eliminar y más tarde recordar al patógeno invasor. La inmunidad adaptativa se desarrolla a partir de la innata y comienza pocos días después de la infección inicial. Constituye una segunda línea de defensa amplia que elimina los patógenos que evaden las reacciones innatas o persisten a pesar de éstas. Una importante consecuencia de la reacción inmunitaria adaptativa es la memoria. Si el mismo agente patógeno u otro estrechamente relacionado infectan al organismo en una segunda ocasión, las células de memoria aportan los medios para que el sistema inmunitario adaptativo monte un ataque rápido y a menudo muy eficaz contra el invasor.

Este capítulo es una introducción al estudio de la inmunología desde una perspectiva histórica. En él se esbozan sus aspectos altamente prácticos o aplicados, poniendo de relieve el papel de la vacunación en el desarrollo de la inmunología como un campo científico y como un importante aspecto de la salud pública. Se presenta un panorama general de los agentes patógenos a los que estamos expuestos, con un repaso amplio de los procesos, células y moléculas que componen los sistemas inmunitarios innato y adaptativo. Por último, se describen las circunstancias en que dichos sistemas no pueden actuar o en que se constituyen en agresores y dirigen sus impresionantes fuerzas contra el propio organismo.

Perspectiva histórica

La disciplina de la inmunología surgió cuando se observó que los individuos recuperados de ciertos trastornos infecciosos quedaban protegidos después contra la enfermedad. El término latino *immunis,* que significa "exento", es el origen de la palabra inmunidad, que se refiere al estado de protección contra anomalías infecciosas.

Tal vez la primera referencia escrita sobre los fenómenos de la inmunidad se encuentra en Tucídides, el gran historiador de las Guerras del Peloponeso. Al describir una plaga en Atenas, escribió en el año 430 AC que sólo quienes se habían recuperado de ella podían cuidar a los enfermos porque no contraerían el padecimiento una segunda vez. Aunque las primeras sociedades reconocieron el fenómeno de la inmunidad, transcurrieron casi 2 000 años antes que el concepto se convirtiera con éxito en una práctica médica eficaz.

Los estudios pioneros sobre la vacunación abrieron el campo para la inmunología

Los primeros intentos registrados de inducir inmunidad de manera deliberada los llevaron a cabo los chinos y los turcos en el siglo XV. Pretendían prevenir la viruela, una enfermedad que es letal en alrededor de 30% de los casos y que deja a los sobrevivientes desfigurados de por vida (fig. 1-1). Los informes sugieren que las costras secas dejadas por las pústulas de la viruela se inhalaban por las narinas o se insertaban en pequeños cortes de la piel (una técnica que se conoce como *variolación*). En 1718, lady Mary Wortley Montagu, la esposa del embajador británico en Constantinopla, observó los efectos positivos de la variolación en la población nativa y practicó la técnica en sus hijos. En 1798, el médico inglés Edward Jenner dio un paso gigantesco en el desarrollo deliberado de inmunidad. Intrigado por el hecho de que las niñeras que habían contraído la pústula vacuna o pústula mamaria de la vaca (una enfermedad leve) quedaban inmunes a la viruela, que es una afección deformante y con frecuencia letal, Jenner razonó que al introducir el líquido de una pústula vacuna en una persona (es decir, el método de inoculación) podría protegérsele de la viruela. A fin de verificar esta idea, inoculó a un niño de ocho años de edad con líquido de una pústula vacuna y luego lo infectó de manera intencional con viruela. Como lo esperaba, el niño no presentó la enfermedad.

La técnica de Jenner de inoculación con pústula vacuna para proteger contra la viruela se difundió con rapidez en toda Europa. Sin embargo, transcurrieron unos 100 años antes que se aplicara este método a otras enfermedades. Como sucede con tanta frecuencia en la ciencia, la casualidad combinada con la observación perspicaz condujo al siguiente adelanto importante en inmunología, la introducción de la inmunidad al cólera. Louis Pasteur tuvo éxito en el cultivo de la bacteria que al parecer causaba el cólera de las gallinas, y confirmó la participación de este microorganismo cuando los pollos inyectados con la bacteria cultivada murieron por el trastorno. Después de regresar de unas vacaciones de verano, inyectó algunos pollos con un cultivo viejo. Los animales enfermaron pero, para sorpresa suya, se recuperaron. A continuación, Pasteur desarrolló un cultivo nuevo de la bacteria con la intención de inyectarla en algunos pollos nuevos. No obstante, según cuenta la historia, su abastecimiento de pollos era limitado y, por esa razón, utilizó los pollos inyectados con anterioridad. Una vez más, para su sorpresa, los pollos estaban del todo protegidos contra la enfermedad. Pasteur conjeturó y demostró que el envejecimiento había debilitado la virulencia del agente patógeno y que esta cepa atenuada podría administrarse para conferir protección contra el padecimiento. Denominó a esta cepa atenuada **vacuna** (del latín *vacca*, que significa vaca), en honor del trabajo de Jenner con la inoculación de pústula vacuna.

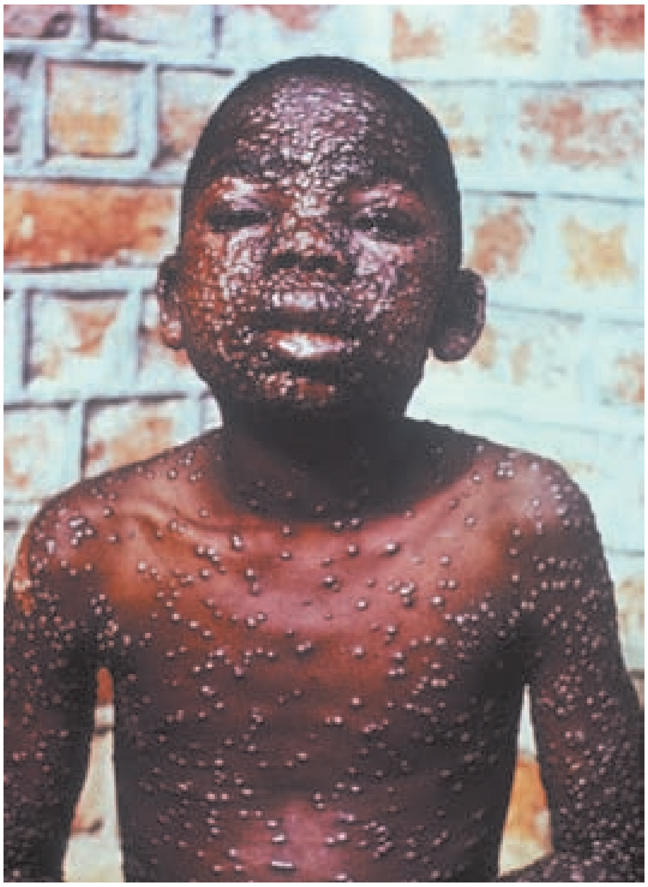


FIGURA 1-1 Niño africano con el exantema típico de la viruela en cara, tórax y brazos. La viruela, causada por el virus *Variola major,* tiene un índice de mortalidad de 30%. Los sobrevivientes a menudo quedan con cicatrices desfigurantes. *[Centers for Disease Control.]*

Pasteur extendió estos descubrimientos a otras afecciones y demostró que era posible **atenuar**, o debilitar, un agente patógeno y suministrar la cepa atenuada como una vacuna. En un experimento ahora clásico realizado en la pequeña aldea de Pouilly-le-Fort en 1881, Pasteur vacunó por primera vez a un

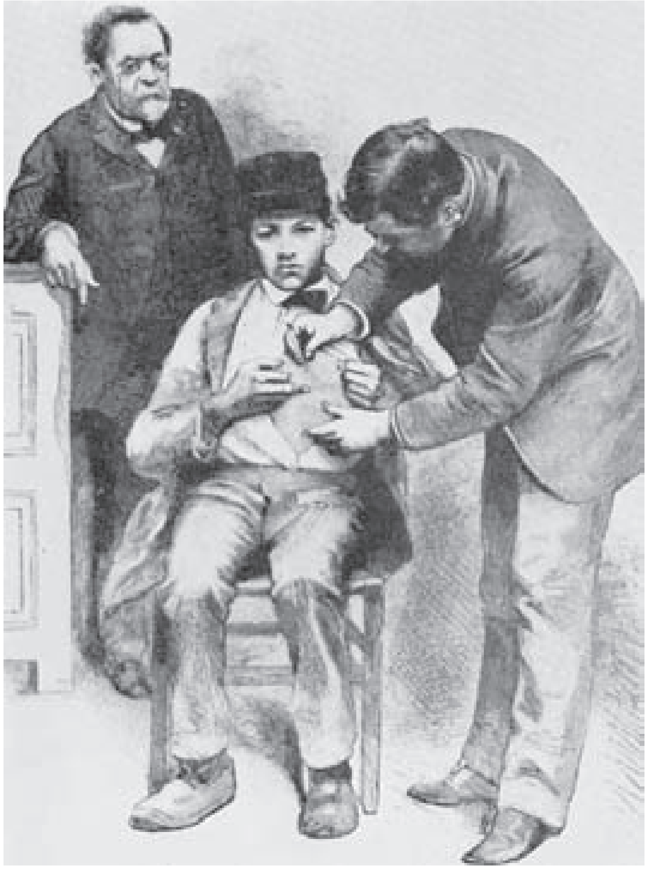


FIGURA 1-2 Grabado en madera de Louis Pasteur que observa a Joseph Meister mientras recibe una vacuna para la rabia. *[Tomada de* Harper's Weekly ***29****:836; cortesía de la National Library of Medicine.]*

grupo de ovejas con el bacilo del carbunco (*Bacillus anthracis*) atenuado por calor; a continuación inoculó a las ovejas vacunadas y algunas no vacunadas con un cultivo virulento del bacilo. Todas las ovejas vacunadas vivieron y las no vacunadas murieron. Estos experimentos marcaron los inicios de la disciplina de la inmunología. En 1885, Pasteur administró su primera vacuna a un ser humano, un niño que había sufrido repetidas mordeduras de un perro rabioso (fig. 1-2). El niño, Joseph Meister, recibió preparados de virus de la rabia atenuados. Vivió y más adelante se convirtió en custodio del Instituto Pasteur.

La vacunación es una tarea continua a nivel mundial

El surgimiento de la ciencia de la inmunología y el descubrimiento de las vacunas están estrechamente vinculados. El descubrimiento, desarrollo y uso apropiado de las vacunas sigue siendo un reto para los inmunólogos en la actualidad.

En 1977 se observó en Somalia el último caso conocido de viruela contraída de manera natural. Esta temida enfermedad fue erradicada por la aplicación universal de una vacuna que no difiere mucho de la que usó Jenner en el decenio de 1790. Una consecuencia de la erradicación es que la vacunación universal se hace innecesaria; éste es un tremendo beneficio porque la vacuna de la viruela conllevaba un ligero grado de riesgo tanto para las personas vacunadas como para las expuestas a quienes recién se habían vacunado. Sin embargo, la erradicación al final de la vacunación universal tiene un lado oscuro. Con el tiempo, el número de personas sin inmunidad a la viruela necesariamente aumentará. Y un día la enfermedad puede ser reintroducida por medios no naturales. De hecho, la viruela se considera una de las más potentes armas del bioterrorismo. Debido a ello, en la actualidad se desarrollan nuevas y más potentes vacunas contra esta infección.

Un logro de la ciencia de las vacunas comparable a la erradicación de la viruela podría estar a la vuelta de la esquina. En este caso se trata de la poliomielitis paralítica, una enfermedad discapacitante que se espera será erradicada en el futuro cercano. Una campaña lanzada por la Organización Mundial de la Salud se basa en programas de inmunización masiva para lograr este objetivo. El proyecto fue frenado por la resistencia en ciertas regiones a causa de rumores en el sentido de que la inmunización causa esterilidad en varoncitos. El resurgimiento regional de casos de poliomielitis en determinadas zonas de Asia y África como resultado de esta resistencia es un retroceso, pero se ha superado por medio de educación y al observarse los beneficios de la vacuna. El hecho de que la poliomielitis no sea una amenaza a nivel mundial y de que se haya eliminado de la mayoría de los países es un triunfo que no debe ser opacado por las demoras en el programa de erradicación.

En Estados Unidos y otros países industrializados, las vacunas han eliminado una multitud de enfermedades de la niñez que se consideraban inseparables del proceso de crecer hace apenas 50 años. Sarampión, paperas, tos ferina, tétanos, difteria y poliomielitis son extremadamente raras o no ocurren debido a las prácticas actuales de vacunación (cuadro 1-1). Es difícil estimar el ahorro que representa para la sociedad la prevención de estas enfermedades. Aparte del sufrimiento y las muertes, el costo económico de tratar estas enfermedades y sus secuelas (como parálisis, sordera, ceguera y retraso mental) es inmenso, y junto a él resultan insignificantes los costos de la inmunización.

Para algunas enfermedades, la inmunización es la mejor y más eficaz defensa, si no la única. Dado que en la actualidad se dispone de pocos fármacos antivíricos, la principal defensa contra la gripe (influenza) debe ser una vacuna eficaz. Si recurre una epidemia de gripe, como muchos expertos predicen que ocurrirá, se producirá una carrera entre su dispersión y la manufactura y administración de tal vacuna. Al momento en que esto se escribe, se sigue muy de cerca el surgimiento de una cepa de gripe aviar. Se han documentado unos 200 casos de infección en seres humanos, de los cuales alrededor de la mitad fueron letales. Si este virus se adapta para propagarse de manera eficiente en seres humanos, el resultado será una gran pandemia. Sin una vacuna preventiva, es posible que se iguale o rebase la devastación causada por la pandemia de gripe de 1918, que dejó nada menos que 50 millones de muertos.

A pesar de las cifras de éxito de las vacunas y de nuestra confianza en ellas, quienes se oponen a los programas de vacunación han afirmado que las vacunas causan más daño que beneficio, y que la vacunación infantil debe restringirse o incluso suspenderse. No hay duda que las vacunas constituyen un tema especial en materia de seguridad, porque se administran a personas

CUADRO 1-1 Casos de enfermedades infecciosas seleccionadas antes y después de la introducción de vacunas eficaces

	CASOS/AÑO		CASOS EN 2004
Enfermedad	**Antes**	**Después**	**Reducción (%)**
Viruela	48 164	0	100
Difteria	175 885	0	100
Sarampión	503 282	37	99.99
Paperas	152 209	236	99.85
Tos ferina	147 271	18 957	87.13
Poliomielitis paralítica	16 316	0	100
Rubéola	47 745	12	99.97
Tétanos	1 314 (muertes)	26 (casos)	98.02
Influenza por *Haemophilus* invasor	20 000	172	99.14

FUENTE: Adaptado de W.A. Orenstein et al., 2005, *Health Affairs* **24**:599.

sanas. Además, existe acuerdo general en que las vacunas deben regularse y las personas deben tener acceso a información clara y completa sobre ellas. Si bien los reclamos de los críticos deben ser evaluados, muchos de ellos pueden responderse mediante un análisis cuidadoso y objetivo de los registros. Un ejemplo reciente es la afirmación de que el conservador a base de mercurio llamado timerosol, que se usaba en algunas vacunas, causa autismo y fue la causa de aumentos recientes en la incidencia del trastorno, el cual se caracteriza por intensa introspección e incapacidad de relacionarse con otros. Este trastorno suele manifestarse entre las edades de uno y dos años, la ventana de tiempo en que se administran muchas vacunas (cap. 19). El gobierno danés conserva meticulosos registros de la salud de sus ciudadanos, y esa fuente de datos arroja luz reveladora sobre la supuesta conexión causal entre timerosol y autismo. Los registros indican que la incidencia de autismo aumentó significativamente desde 1992 en Dinamarca. Sin embargo, también revelan que el uso de timerosol como conservador en vacunas ya había cesado por completo en ese país varios años antes. Datos como éstos hacen difícil vincular el autismo con el uso de timerosol, y sugieren la necesidad de mayor investigación sobre las causas del incremento del autismo.

Quizá el mayor desafío actual en el desarrollo de vacunas es la carencia de ellas para azotes mayores como paludismo y SIDA. Se espera que los inmunólogos de la actualidad, dotados de las herramientas de la biología molecular y celular, la genómica y la proteómica, construyan caminos hacia la prevención de estas enfermedades. Una preocupación más acerca de las vacunas es el hecho de que millones de niños de países en vías de desarrollo mueren a causa de enfermedades del todo prevenibles por medio de vacunas seguras y accesibles. Altos costos de manufactura, inestabilidad de los productos y problemas de envío impiden que estas vacunas lleguen a quienes se beneficiarían enormemente de ellas. En muchos casos, este problema podría paliarse mediante el desarrollo de vacunas de nueva generación con bajo costo, termoestables y susceptibles de administrarse por vías distintas de la inyección.

Primeros estudios sobre inmunidad humoral y celular

Aunque Pasteur demostró que la vacunación funcionaba, no comprendía cómo. El trabajo experimental de Emil von Behring y Shibasaburo Kitasato en 1890 proporcionó la primera información sobre el mecanismo de la inmunidad; esto le valió a von Behring el premio Nobel de medicina en 1901 (cuadro 1-2). Von Behring y Kitasato demostraron que el **suero** (el componente líquido, no celular, de la sangre coagulada) de animales inmunizados con anterioridad contra la difteria podía transferir el estado de inmunidad a animales no inmunizados. En la investigación del agente protector, varios científicos probaron durante la década siguiente que un componente activo del suero inmune podía neutralizar y precipitar toxinas y aglutinar (agrupar) bacterias. En cada caso, el agente activo recibió su nombre según la actividad que mostraba: antitoxina, precipitina y aglutinina, respectivamente. Al inicio se pensó que distintos componentes del suero eran los que inducían cada actividad, pero durante la década de 1930, en particular con los esfuerzos de Elvin Kabat, quedó claro que una fracción de suero llamada primero globulina gamma (en la actualidad **inmunoglobulina**) era la que generaba todas estas actividades. Las moléculas activas en la fracción de inmunoglobulina se llamaron **anticuerpos**. (Los términos *anticuerpo* e *inmunoglobulina* pueden usarse de manera indistinta, pero el primero suele reservarse para inmunoglobulinas con especificidad conocida para un antígeno.) Debido a que los anticuerpos contenidos en líquidos corporales (conocidos en esa época como humores) mediaban la inmunidad, se acuñó el término inmunidad humoral.

La observación de von Behring y Kitasato se aplicó a la práctica clínica. Antes del advenimiento de la antibioticoterapia para las enfermedades infecciosas, pacientes con una variedad de afecciones recibían antisueros, a menudo obtenidos de caballos. En la actualidad existen tratamientos basados en la transferencia de inmunoglobulinas, y con el desarrollo de tecnología de anticuerpos monoclonales, la terapia con anticuerpos es una empresa comercial bien establecida (véase el enfoque clínico del cap. 4). El

CUADRO 1-2 Premios Nobel concedidos por investigación en inmunología

Año	Galardonado	País	Investigación
1901	Emil von Behring	Alemania	Antitoxinas séricas
1905	Robert Koch	Alemania	Inmunidad celular a la tuberculosis
1908	Elie Metchnikoff Paul Ehrlich	Rusia Alemania	Función de la fagocitosis (Metchnikoff) y las antitoxinas (Ehrlich) en la inmunidad
1913	Charles Richet	Francia	Anafilaxis
1919	Jules Bordet	Bélgica	Bacteriólisis mediada por complemento
1930	Karl Landsteiner	Estados Unidos	Descubrimiento de los grupos sanguíneos humanos
1951	Max Theiler	Sudáfrica	Desarrollo de la vacuna para la fiebre amarilla
1957	Daniel Bovet	Suiza	Antihistamínicos
1960	F. Macfarlane Burnet Peter Medawar	Australia Gran Bretaña	Descubrimiento de la tolerancia inmunitaria adquirida
1972	Rodney R. Porter Gerald M. Edelman	Gran Bretaña Estados Unidos	Estructura química de los anticuerpos
1977	Rosalyn R. Yalow	Estados Unidos	Desarrollo de los radioinmunoensayos
1980	George Snell Jean Dausset Baruj Benacerraf	Estados Unidos Francia Estados Unidos	Complejo mayor de histocompatibilidad
1984	Cesar Milstein Georges E. Köhler Niels K. Jerne	Gran Bretaña Alemania Dinamarca	Anticuerpos monoclonales Teorías reguladoras inmunitarias
1987	Susumu Tonegawa	Japón	Transposición génica en la producción de anticuerpo
1991	E. Donnall Thomas Joseph Murray	Estados Unidos Estados Unidos	Inmunología de trasplantes
1996	Peter C. Doherty Rolf M. Zinkernagel	Australia Suiza	Función del complejo mayor de histocompatibilidad en el reconocimiento de antígeno por células T
2002	Sydney Brenner H. Robert Horvitz J. E. Sulston	Sudáfrica Estados Unidos Gran Bretaña	Regulación genética del desarrollo de órganos y la muerte celular (apoptosis)

empleo de urgencia de sueros que contienen anticuerpos contra venenos de serpientes o escorpiones es una práctica común en víctimas de ataques de estos animales. Mientras que una vacuna induce **inmunidad activa** en el hospedador, la transferencia de anticuerpo con determinada especificidad confiere **inmunidad pasiva**. Los neonatos se benefician de la inmunización pasiva conferida por la presencia de anticuerpos maternos en su circulación. La inmunidad pasiva puede inducirse de manera preventiva (profiláctica) en aquellos que se prevé que estarán expuestos a una enfermedad dada o en quienes tienen baja inmunidad.

Los antisueros contra determinadas toxinas bacterianas, como las causantes de tos ferina y tétanos, pueden administrarse a individuos infectados para detener la enfermedad provocada por la toxina. Un vívido ejemplo de esta aplicación es el caso del viaje de 674 millas (1 080 km) en trineos tirados por perros sobre los páramos helados de Alaska para llevar antitoxina diftérica desde Fairbanks hasta los niños afectados en la ciudad sitiada por el hielo de Nome durante un brote de difteria en 1925. El feliz desenlace es conmemorado cada año en la carrera de trineos tirados por perros conocida como Iditarod, y en el Central Park de Nueva York existe una estatua dedicada a Balto, uno de los perros de tiro que participó en el tramo final del viaje.

En 1883, incluso antes de descubrirse que un componente sérico podía transferir inmunidad, Elie Metchnikoff (nombre dado en Inglaterra a *Ilia Ilich Mechnikov*) demostró que las células también contribuían al estado inmunitario de un animal. Observó que ciertos glóbulos blancos, que denominó **fagocitos**, eran capaces de ingerir (fagocitar) microorganismos y otro material extraño (fig. 1-3). Al observar que estas células fagocíticas eran más activas en animales inmunizados, Metchnikoff conjeturó que las células, en lugar de los componentes séricos, eran los principales efectores de la inmunidad. Las células fagocíticas activas identificadas por Metchnikoff probablemente eran monocitos y neutrófilos sanguíneos (cap. 2).

Desafíos teóricos

Si bien el desarrollo de vacunas seguras y eficaces y el uso de inmunoterapia pasiva siguen siendo problemas desafiantes en la investigación clínica (también llamada *traduccional*), el estudio de la inmunología planteó asimismo cuestiones teóricas intrigantes que ocuparon a la comunidad científica.

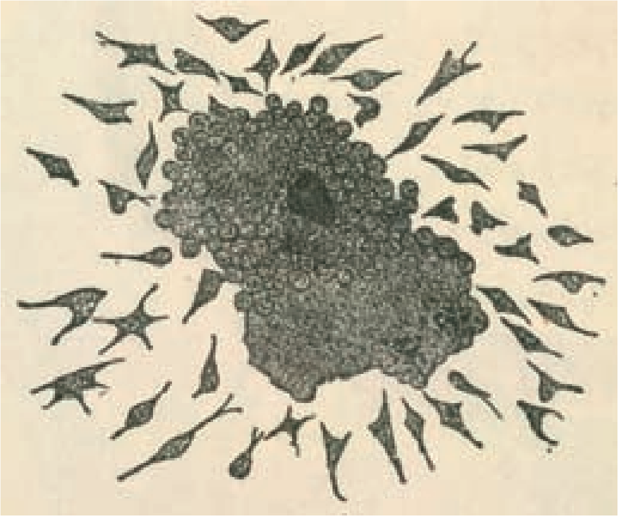


FIGURA 1-3 Dibujo realizado por Elie Metchnikoff de células fagocíticas que rodean una partícula extraña. Metchnikoff fue el primero en describir y nombrar el proceso de la fagocitosis, o ingestión de materia extraña por leucocitos. *[Con permiso de The British Library: 7616.h.19,* Lectures on the Comparative Pathology of Inflammation delivered at the Pasteur Institute in 1891, *traducido por F.A. Starling y E.H. Starling, con grabados de Ilia Ilich Mechnikov, 1893, pág. 64, fig. 32.]*

Una interrogante que pronto salió a la superficie se refería a las funciones relativas de la inmunidad celular y la humoral. Surgió una controversia entre quienes planteaban el concepto de inmunidad humoral y quienes concordaban con el concepto de Metchnikoff de **inmunidad mediada por células**. Ahora es claro que ambos son correctos: para una reacción inmunitaria completa se requieren tanto respuestas celulares como humorales. Los estudios pioneros de las células inmunitarias fueron obstaculizados por la falta de modelos animales genéticamente definidos y de las técnicas modernas de cultivo de tejidos, mientras que en los estudios con suero se aprovechaba la amplia disponibilidad de sangre y de técnicas bioquímicas establecidas para purificar mediadores proteínicos de la inmunidad humoral. Por tanto, la información sobre la inmunidad celular se rezagó respecto de los descubrimientos relacionados con la inmunidad humoral.

En un experimento fundamental realizado en la década de 1940, Merrill Chase, que trabajaba en el Rockefeller Institute, tuvo éxito en la transferencia de inmunidad contra el microorganismo de la tuberculosis al transferir glóbulos blancos entre cobayos. Hasta entonces, los intentos por desarrollar una vacuna o terapia de anticuerpos eficaces contra la tuberculosis habían fracasado. Así, la demostración de Chase ayudó a reavivar el interés por la inmunidad celular. Con el surgimiento de mejores técnicas de cultivo de células en la década de 1950, se reconocieron los **linfocitos** como las células a cargo de las inmunidades celular y humoral. Poco tiempo después, los experimentos pioneros de Bruce Glick con pollos en la Mississippi State University indicaron que había dos tipos de linfocitos: linfocitos T, derivados del timo y que mediaban la inmunidad celular, y linfocitos B, de la bolsa de Fabricio (una evaginación de la cloaca en aves), que participaban en la inmunidad humoral. La controversia sobre las funciones de la inmunidad humoral y celular se resolvió cuando se demostró que los dos sistemas estaban entretejidos. Se hizo evidente que ambos eran necesarios para la reacción inmunitaria.

Uno de los mayores enigmas que afrontaron los primeros inmunólogos fue la especificidad de la molécula de anticuerpo en relación con el material extraño, o **antígeno** (el término general para una sustancia que se une con un anticuerpo específico). Alrededor de 1900, Jules Bordet amplió en el Instituto Pasteur el concepto de la inmunidad más allá de las enfermedades infecciosas al demostrar que sustancias no patógenas, como los glóbulos rojos de otras especies, podían actuar como antígenos. El suero de un animal inoculado previamente con material no infeccioso reaccionaba a este material de una manera específica en un segundo encuentro. El trabajo de Karl Landsteiner y quienes le siguieron probó que al inyectar a un animal casi cualquier sustancia química orgánica podía inducirse la producción de anticuerpos que se unían de manera específica a la sustancia química. Estos estudios dejaron en claro que los anticuerpos son capaces de una gama ilimitada de reactividad, incluidas las reacciones a compuestos que sólo hasta fecha reciente se habían sintetizado en el laboratorio y que no existían antes en la naturaleza. Además, se demostró que las moléculas que diferían en el más pequeño detalle podían distinguirse por su reactividad con diferentes anticuerpos. Se propusieron dos teorías principales para explicar esta especificidad: la selectiva y la instruccional.

La concepción más temprana de la *teoría selectiva* procede de Paul Ehrlich en 1900. En un intento de explicar el origen del anticuerpo sérico, Ehrlich propuso que las células en la sangre expresaban una diversidad de receptores, a los que denominó “receptores de cadena lateral”, que podían reaccionar con agentes infecciosos y desactivarlos. Con base en un concepto empleado por Emil Fischer en 1894 para explicar la interacción entre una enzima y su sustrato, Ehrlich propuso que la unión de los receptores a un agente infeccioso era similar al ajuste entre una cerradura y la llave. Ehrlich sugirió que la interacción entre un agente infeccioso y un receptor unido a la célula induciría a la célula a producir y liberar más receptores con la misma especificidad (fig. 1-4). Según la teoría de este científico, la especificidad del receptor estaba determinada antes de su exposición al antígeno y este último seleccionaba el receptor apropiado. Por último, se demostró que todos los aspectos de la teoría de Ehrlich eran correctos, con la excepción menor de que el “receptor” existe como una molécula de anticuerpo soluble y como un receptor unido a la célula; la forma soluble es la que se secreta en lugar de liberarse la forma unida.

En los decenios de 1930 y 1940, varias *teorías instruccionales* desafiaron la teoría de la selectividad, en la cual el antígeno tenía un sitio central en la determinación de la especificidad de la molécula de anticuerpo. Según las teorías instruccionales, un antígeno particular podría servir como una plantilla alrededor de la cual se plegaría el anticuerpo. Por consiguiente, la molécula de anticuerpo asumiría una forma complementaria a la propia de la plantilla de antígeno. Este concepto lo postularon por primera vez Friedrich Breinl y Felix Haurowitz alrededor de 1930, y en la década de 1940, Linus Pauling lo redefinió en términos del plegamiento de proteínas. Las teorías instruccionales fueron formalmente desechadas en el decenio de 1960, en el que comenzó a publicarse información sobre la estructura del DNA, el RNA y las proteínas, que ofrecería nuevos datos para resolver el arduo problema de determinar el modo en que un individuo puede elaborar anticuerpos contra casi cualquier cosa.

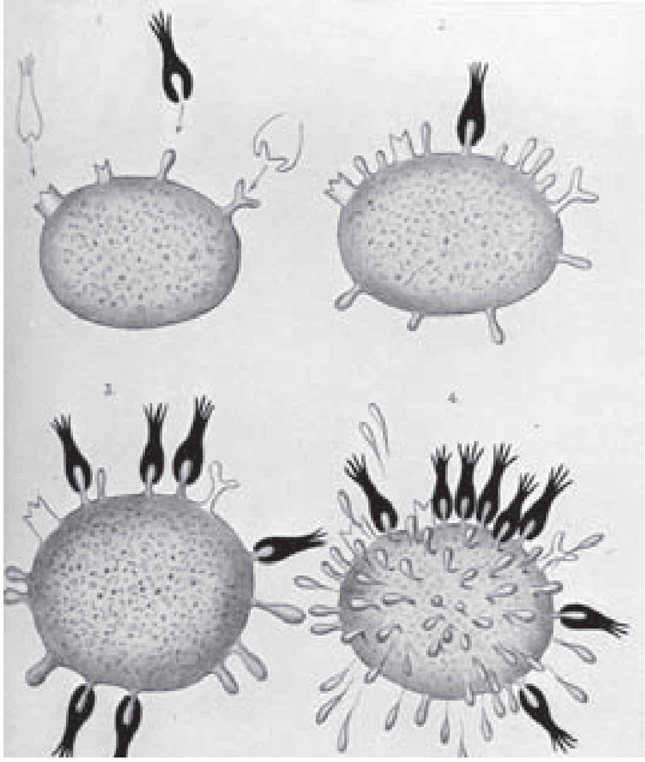


FIGURA 1-4 Representación de la teoría de la cadena lateral de Paul Ehrlich para explicar la formación de anticuerpos. La célula es pluripotente en el sentido de que expresa varios receptores o cadenas laterales diferentes, todos con distinta especificidad; si un antígeno se encuentra con esta célula y existe buen ajuste con una de sus cadenas laterales, se activa la síntesis de ese receptor, que será liberado. *[Tomada de Ehrlich's Croonian lecture of 1900 to the Royal Society.]*

En la década de 1950 resurgieron algunas teorías selectivas como resultado de nuevos datos experimentales y, a través de la perspicacia de Niels Jerne, David Talmadge y F. Macfarlane Burnet, se depuraron en una teoría que se conoció como la teoría de la **selección clonal**. Según ésta, un linfocito individual expresa receptores de membrana específicos para un antígeno preciso. Esta especificidad de receptor único se determina antes que el linfocito se exponga al antígeno. La unión del antígeno a su receptor específico activa la célula y la hace proliferar en una clona de células que tienen la misma especificidad inmunitaria que la célula original. La teoría de la selección clonal se ha refinado aún más, y hoy en día se acepta como el paradigma subyacente de la inmunología moderna.

Infección e inmunidad

Junto con el campo en desarrollo de la inmunología creció el estudio de la microbiología médica, que abarcaba la identificación de agentes infecciosos y los modos en que causan enfermedad. Los organismos que producen enfermedad se denominan **agentes patógenos**, y la manera en que atacan al hospedador recibe el nombre de **patogenia**. Los agentes patógenos para el ser humano pueden agruparse en categorías amplias, como se muestra en el cuadro siguiente y en la figura 1-5.

Grupos principales de patógenos para el ser humano	Ejemplos de enfermedades
Virus	Poliomielitis, viruela, gripe, sarampión, SIDA
Bacterias	Tuberculosis, tétanos, tos ferina
Hongos	Algodoncillo, tiña
Parásitos	Paludismo, leishmaniasis

De gran interés aquí son los medios por los cuales puede lograrse una inmunidad eficaz contra los patógenos. Una buena defensa depende fundamentalmente de la naturaleza del microorganismo individual. Por ejemplo, dado que los virus requieren de las células de los mamíferos para multiplicarse, una estrategia defensiva eficaz puede implicar el reconocimiento y la destrucción de cualquier célula que esté infectada por virus antes de que éstos completen su ciclo de vida. En el caso de microorganismos que se multiplican fuera de las células del hospedador, puede recurrirse al reconocimiento rápido de estos invasores por los anticuerpos o por moléculas solubles, seguido de mecanismos de inmunidad celular y molecular para eliminar al agente patógeno.

Algunos patógenos que proliferan en el ambiente no causan problemas a los individuos sanos porque éstos poseen inmunidad preexistente adecuada. Sin embargo, quienes presentan deficiencias en la inmunidad pueden ser susceptibles a las enfermedades causadas por esos microorganismos ubicuos. Por ejemplo, el hongo *Candida albicans*, que se halla casi en todas partes, no causa problemas a la mayoría de las personas. Sin embargo, en quienes tienen disminuida la inmunidad puede provocar un exantema irritante y una infección que se disemina a la mucosa que recubre las cavidades bucal y vaginal. El exantema, llamado algodoncillo, en ocasiones es el primer signo de disfunción inmunitaria. Si no se controla, *C. albicans* puede propagarse y causar candidosis sistémica, un trastorno que pone en peligro la vida. Otro ejemplo es el caso del virus *Herpesvirus simplex*, que normalmente provoca lesiones pequeñas alrededor de los labios o los genitales. En las personas inmunodeficientes, tales lesiones pueden propagarse hasta cubrir grandes porciones del cuerpo. Dichas infecciones por microorganismos ampliamente difundidos, que se observan a menudo en casos de deficiencia inmunitaria, se denominan **infecciones oportunistas**. Varias infecciones oportunistas poco comunes que se identificaron en los primeros pacientes de SIDA fueron la señal de que su sistema inmunitario estaba gravemente afectado.

En el caso de algunos patógenos que se sabe causan enfermedad grave, los mecanismos de adquisición de inmunidad están bien documentados y permiten controlar el trastorno. Por ejemplo, el tétanos es causado por una bacteria que es común en el suelo (*Clostridium tetani*) y la cual actúa a través de una toxina que ataca el sistema nervioso (neurotoxina). Si no se trata, el tétanos produce la muerte en un corto tiempo. Existe una vacuna eficaz contra este trastorno, y si llega a fallar, es posible administrar anticuerpos contra la toxina para prevenir la enfermedad potencialmente letal. Antes de que se dispusiera de estas medidas de prevención y tratamiento, todo aquel que sufría una herida por punción con un objeto contaminado con tierra, por ejemplo un clavo mohoso, se encontraba en riesgo de sufrir una infección tetánica letal. En notable contraste con el éxito para controlar el tétanos, no ha sido posible diseñar estrategias inmunitarias para controlar la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), que provoca el SIDA.

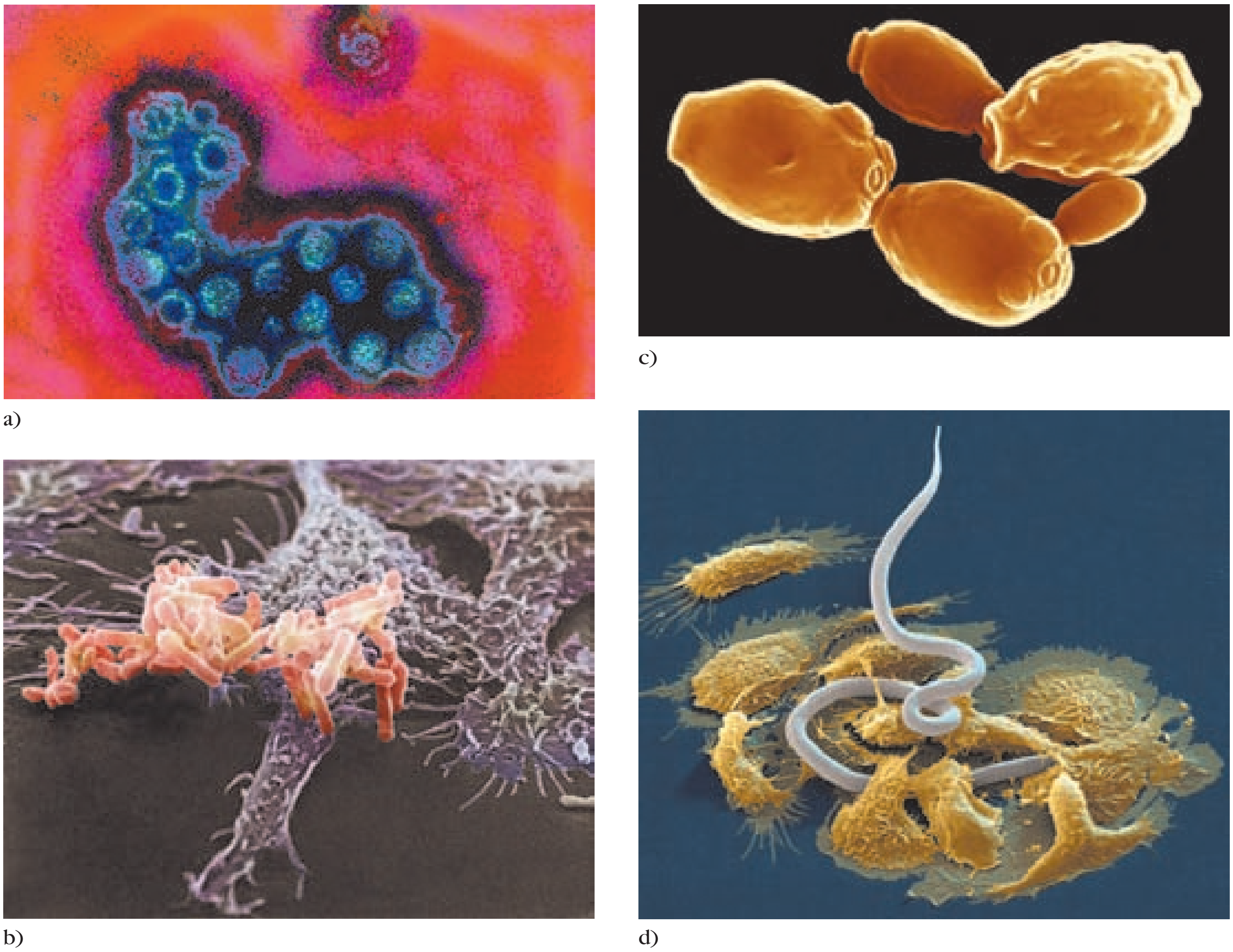


FIGURA 1-5 Los patógenos representan las principales categorías de microorganismos que causan enfermedades al ser humano. a) Virus: micrografía electrónica de transmisión de rotavirus, principales causantes de diarrea en niños. Los rotavirus causan la muerte de alrededor de un millón de niños al año en países en vías de desarrollo, y la hospitalización de unos 50 000 lactantes al año en Estados Unidos. *[VEM/Photo Researchers.]* b) Bacterias: *Pseudomonas*, una bacteria del suelo que constituye un patógeno oportunista para el ser humano; se le muestra al ser ingerida por macrófagos humanos. *[David M. Phillips/Photo Researchers.]* c) Hongos: *Candida albicans*, una levadura que habita en boca, faringe, intestinos y vías genitourinarias del ser humano; *C. albicans* suele causar algodoncillo bucal o vaginitis en individuos inmunodeficientes o que reciben antibióticos, los cuales destruyen la flora bacteriana normal. *[Stem Jems/Photo Researchers.]* d) Parásitos: forma larvaria de una filaria, gusano parásito, al ser atacada por macrófagos. Alrededor de 120 millones de personas en todo el mundo padecen alguna forma de filariasis. *[Oliver Meckes/Nicole Ottawa/Eye of Science/Photo Researchers.]*

El sistema inmunitario debe enfrentar todo tipo de agentes patógenos y ha desarrollado por evolución múltiples estrategias para combatir la invasión de agentes patógenos que han rebasado las primeras barreras de la piel y las mucosas. Veremos que algunas de estas estrategias están encaminadas a reaccionar en el instante mismo en que un patógeno supera las barreras del hospedador; otras defensas están diseñadas para actuar una vez que se ha establecido la infección.

Inmunidad innata y adaptativa

La inmunidad —el estado de protección contra una enfermedad infecciosa— tiene un componente menos específico y otro que lo es más. El componente menos específico, la **inmunidad innata**, es la primera línea de defensa contra una infección. Casi todos los componentes de la inmunidad innata se encuentran antes del inicio de la infección y constituyen un grupo de mecanismos de resistencia contra la enfermedad que no son específicos de un patógeno particular sino que incluyen componentes celulares y moleculares, que reconocen clases de moléculas peculiares a los patógenos que se encuentran con frecuencia.

El primer obstáculo para un patógeno son las barreras que protegen al hospedador. De éstas, las más conspicuas son la piel y las membranas mucosas. La acidez del contenido estomacal y del sudor son otra barrera contra los microorganismos incapaces de prosperar en condiciones ácidas. Enzimas como la lisozima, presente en las lágrimas, atacan las paredes celulares de determinadas bacterias cuando entran en contacto con ellas. La importancia de estas barreras se hace evidente cuando son superadas. Las mordeduras o picaduras de animales pueden desgarrar la piel e introducir diversas enfermedades. Las mordeduras de vertebrados pueden transmitir rabia y tétanos, mientras que los invertebrados propagan una multitud de enfermedades, como paludismo (mosquitos), peste (pulgas) y enfermedad de Lyme (garrapatas). Un ejemplo impresionante de pérdida de la función de barrera lo constituye el caso de las víctimas de quemaduras, quienes pierden la piel protectora en el sitio quemado y deben tratarse de manera vigorosa con fármacos para prevenir infecciones bacterianas y micóticas. Después de las barreras mecánicas, la inmunidad innata incluye diversas células, como los fagocitos demostrados por Metchnikoff, así como los compuestos antimicrobianos sintetizados por el hospedador que son capaces de reconocer y neutralizar a los invasores con base en marcadores moleculares de superficie comunes.

Las células fagocíticas constituyen una barrera contra las infecciones

Otro mecanismo innato de defensa importante es la ingestión de material particulado extracelular por fagocitosis. Esta última es un tipo de **endocitosis**, el término general para la captación por una célula de material de su ambiente. En la fagocitosis la membrana plasmática de la célula se expande alrededor del material particulado, que puede incluir microorganismos patógenos completos. Casi la totalidad de la fagocitosis la llevan a cabo células especializadas, como los monocitos y neutrófilos sanguíneos y los macrófagos tisulares (cap. 2). La mayoría de los tipos celulares son capaces de adoptar otras formas de endocitosis, como la *endocitosis mediada por receptor*, en la que se internalizan moléculas extracelulares después de unirse a receptores celulares específicos, y la *pinocitosis,* proceso por el cual las células captan líquido del medio ambiente junto con cualquier molécula contenida en él.

Algunas moléculas solubles contribuyen a la inmunidad innata

Diversos factores solubles contribuyen a la inmunidad innata, entre ellos la proteína lisozima, las proteínas del interferón, y componentes del sistema del complemento (cap. 7). La **lisozima**, una enzima hidrolítica que se encuentra en las secreciones mucosas y las lágrimas, puede romper la capa de peptidoglucano de la pared celular bacteriana. El **interferón** es un grupo de proteínas producidas por células infectadas por virus. Entre las múltiples funciones de los interferones se encuentra la capacidad de unirse a células cercanas e inducir un estado antivírico generalizado.

El **complemento**, que se examina con detalle en el capítulo 7, es un grupo de proteínas séricas que circulan en estado inactivo. Múltiples mecanismos inmunitarios específicos e inespecíficos pueden convertir las formas inactivas de las proteínas del complemento en un estado activo con la capacidad de dañar las membranas de microorganismos patógenos, sea que las destruyan o faciliten su eliminación. El complemento se encuentra en una posición prácticamente con un pie en el sistema inmunitario innato y el otro en el adaptativo, ya que algunos de sus componentes pueden enfrentar de manera directa a los patógenos, mientras que otros requieren de unión previa de anticuerpos para activar su sistema efector. Las reacciones entre moléculas del complemento o fragmentos de ellas y receptores celulares estimulan la activación de células del sistema inmunitario innato o del adaptativo. Estudios recientes sobre las **colectinas** indican que estas proteínas tensoactivas pueden destruir ciertas bacterias de manera directa por alteración de sus membranas lipídicas o, de manera alternativa, al agregar las bacterias para incrementar su susceptibilidad a la fagocitosis.

Muchas de las moléculas que participan en la inmunidad innata tienen la propiedad del **reconocimiento de patrón**, que es la capacidad de identificar una clase específica de moléculas. Debido a que hay ciertos tipos de moléculas que son exclusivas de los microorganismos y nunca se encuentran en organismos multicelulares, la capacidad de reconocer y combatir de inmediato a invasores que poseen estas moléculas es una característica muy útil de la inmunidad innata. Las moléculas con capacidad de reconocimiento de patrón pueden ser solubles, como la lisozima y los componentes del complemento descritos con anterioridad, o bien pueden ser receptores relacionados con células, como los **receptores tipo Toll** (**TLR**, del inglés *Toll-like receptors*), que se describen en el capítulo 3.

Si el patógeno invasor supera las barreras físicas y químicas del hospedador, entonces es posible que sea detectado por moléculas de reconocimiento de patrón del hospedador y atrapado por células fagocíticas, lo que hace que el sistema experimente una reacción inflamatoria (caps. 3 y 13). Esta reacción concentra elementos de inmunidad innata en el sitio de inflamación y puede dar por resultado una reacción inmunitaria específica contra el invasor. La respuesta específica inducida por la inflamación es la inmunorreacción adaptativa (que a veces recibe el nombre de adquirida).

En contraste con la amplia reactividad del sistema inmunitario innato, que es uniforme en todos los miembros de una especie, el componente específico, la inmunidad adaptativa, no actúa sino hasta que existe un reto antigénico para el organismo. La inmunidad adaptativa responde al desafío con un grado elevado de especificidad y, asimismo, con la propiedad notable de "memoria". De manera característica, se observa una reacción inmunitaria adaptativa contra un antígeno en el transcurso de cinco a seis días después de la exposición inicial a ese antígeno. La exposición al mismo antígeno algún tiempo después tiene como resultado una respuesta de memoria: la reacción inmunitaria al segundo contacto ocurre en menos tiempo que la primera, es más potente y con frecuencia más eficaz para neutralizar y eliminar el patógeno. Los principales agentes de la inmunidad adaptativa son los linfocitos y los anticuerpos que éstos producen. En el cuadro 1-3 se comparan la inmunidad innata y la adaptativa.

Debido a que las respuestas inmunitarias adaptativas requieren cierto tiempo para emitirse, la inmunidad innata proporciona la primera línea de defensa durante el período crítico, inmediatamente después de la exposición del hospedador a un patógeno. En general, la mayoría de los microorganismos que encuentra un individuo sano son eliminados con facilidad en el transcurso de unos cuantos días por los mecanismos de defensa del sistema inmunitario innato antes de activar el adaptativo.

La colaboración entre la inmunidad innata y la adaptativa incrementa la inmunorreactividad

Es importante apreciar que los sistemas inmunitarios innato y adaptativo no operan de manera independiente entre sí; funcionan en un sistema altamente interactivo y cooperativo, produciendo una respuesta combinada más eficaz de lo que cualquiera

CUADRO 1-3 Comparación de las inmunidades innata y adaptativa

	Innata	Adaptativa
Tiempo de respuesta	Horas	Días
Especificidad	Limitada y fija	Muy diversa; mejora durante el curso de la reacción inmunitaria
Respuesta a infecciones repetidas	Idéntica a la respuesta primaria	Mucho más rápida que la respuesta primaria
Componentes principales	Barreras (p. ej., piel); fagocitos; moléculas de reconocimiento de patrón	Linfocitos; receptores específicos de antígeno; anticuerpos

de las dos ramas podría producir por sí misma. Determinados componentes inmunitarios celulares y moleculares tienen importantes papeles en ambos tipos de inmunidad.

Un ejemplo de cooperación se observa en el encuentro entre macrófagos y microorganismos. Las interacciones entre receptores en los macrófagos por un lado y componentes microbianos por el otro generan proteínas solubles que estimulan y dirigen inmunorreacciones adaptativas, lo que facilita la participación del sistema inmunitario adaptativo en la eliminación del patógeno. Las proteínas solubles son moléculas tipo factor del crecimiento conocidas por el nombre general de **citocinas**. Éstas reaccionan con receptores presentes en diversos tipos celulares e indican ("señalan") a la célula que realice funciones como la síntesis de nuevos factores o que experimente la diferenciación en un nuevo tipo celular. Una clase restringida de citocinas, llamadas **quimiocinas**, tiene actividad quimiotáctica y recluta células específicas en el sitio en que la célula secreta esa citocina.

El tipo de comunicación intracelular mediado por citocinas recibe el nombre general de **señalización**. Básicamente, la señalización consiste en la reacción entre una molécula soluble (ligando) y una molécula unida a la membrana celular (receptor) o entre moléculas unidas a membrana en dos células distintas. La interacción entre un receptor y su ligando induce adaptaciones metabólicas en las células. Existe una enorme cantidad de vías de transducción de señales distintas, todas las cuales exhiben temas en común típicos de estos procesos integrativos:

- *La transducción de señales comienza cuando una señal se une a su receptor.* Los receptores pueden estar dentro o fuera de la célula. Las señales que no pueden penetrar la membrana celular se unen a receptores en la superficie de la célula. Este grupo incluye moléculas de señalización hidrosolubles y ligandos unidos a membrana (complejos MHC-péptido, por ejemplo). Las señales hidrófobas, como los esteroides, pueden difundirse a través de la membrana celular y son capturadas (enlazadas) por receptores intracelulares.
- *Muchas vías de transducción de señales implican el ensamblaje de componentes de esa vía inducido por una señal.* Las moléculas conocidas como proteínas adaptadoras se unen de manera específica y simultánea a dos o más moléculas distintas que participan en la vía de señalización, de modo que las acercan entre sí y promueven su actividad combinada.
- *La recepción de señales a menudo ocasiona la generación de un "segundo mensajero" dentro de la célula*; se trata de una molécula o ion capaz de difundirse a otros sitios de la célula y estimular cambios metabólicos. Son ejemplos nucleótidos cíclicos (cAMP, cGMP), ion calcio (Ca^{2+}) y derivados de fosfolípido de membrana como diacilglicerol (DAG) y trifosfato de inositol (IP_3).
- *Se activan o inhiben proteincinasas y proteinfosfatasas.* Las cinasas catalizan la fosforilación de residuos blanco (tirosina, serina o treonina) de proteínas de transducción de señales clave. Las fosfatasas catalizan la desfosforilación, con lo cual invierten el efecto de las cinasas. Estas enzimas tienen papeles esenciales en muchas vías de transducción de señales de interés inmunológico.
- *Las señales son amplificadas por cascadas enzimáticas.* Una enzima en una vía de señalización, una vez activada, cataliza muchas otras reacciones. La enzima puede generar una multitud de moléculas del componente que sigue en la vía o activar muchas copias de la siguiente enzima en la secuencia. Esto amplifica en gran medida la señal en cada paso y da oportunidades para modular la intensidad de una señal.

Estos procesos se representan de manera esquemática en la figura 1-6.

La actividad que resulta de la transducción de señales puede ser de síntesis o secreción (o ambas) de determinadas proteínas, de diferenciación, o de inicio o cese de funciones específicas. Por ejemplo, los macrófagos estimulados secretan citocinas que pueden dirigir inmunorreacciones adaptativas de linfocitos contra patógenos específicos.

De manera complementaria, el sistema inmunitario adaptativo produce señales y componentes que elevan la eficacia de las reacciones innatas. Algunos linfocitos T, cuando encuentran antígeno presentado de manera apropiada, sintetizan y secretan citocinas que incrementan la capacidad de los macrófagos de destruir los microorganismos que han ingerido. Asimismo, los anticuerpos producidos contra el invasor se unen al patógeno, con lo cual lo marcan como un blanco del ataque de macrófagos o de proteínas del complemento y sirven como un potente activador del ataque.

Una diferencia importante entre la inmunidad adaptativa y la innata es la rapidez de la segunda, la cual utiliza un repertorio preexistente pero limitado de componentes de respuesta. La inmunidad adaptativa compensa su inicio más lento con su capacidad de reconocer un repertorio mucho más amplio de sustancias extrañas y de mejorar durante una respuesta, mientras que la inmunidad innata permanece constante.

La inmunidad adaptativa es altamente específica

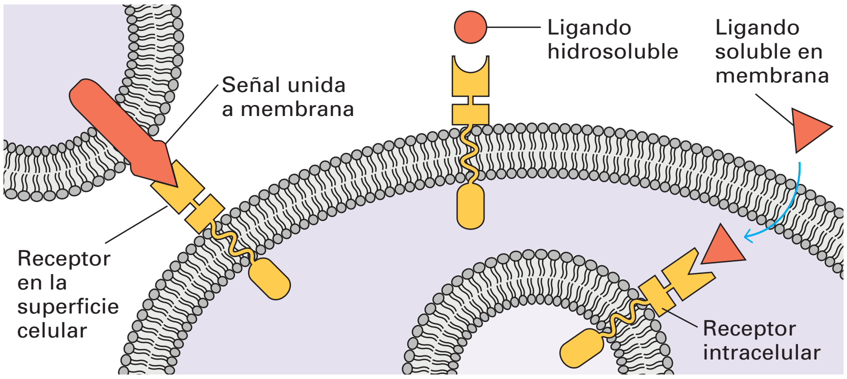
La inmunidad adaptativa es capaz de reconocer y eliminar de manera selectiva microorganismos y moléculas extrañas específicos (es decir, antígenos ajenos). A diferencia de las reacciones

FIGURA 1-6 PARA VISUALIZACIÓN DE CONCEPTOS: Temas comunes en la transducción de señales

Recepción de la señal

1

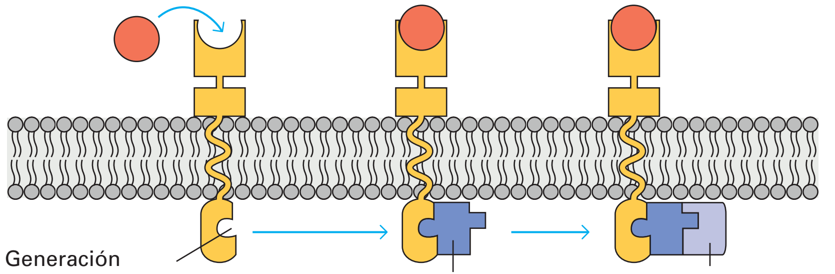
Las vías de señalización se inician cuando una señal se une a su receptor


Ligando hidrosoluble
Ligando soluble en membrana
Señal unida a membrana
Receptor en la superficie celular
Receptor intracelular

Transducción

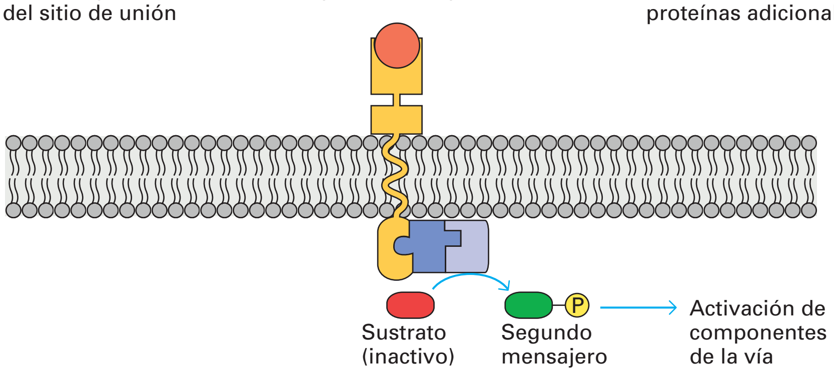
2

La unión del ligando al receptor induce el ensamblaje de componentes de la vía de señalización


Generación mediada por señal del sitio de unión
La proteína adaptadora se une
Se unen una o más proteínas adicionales

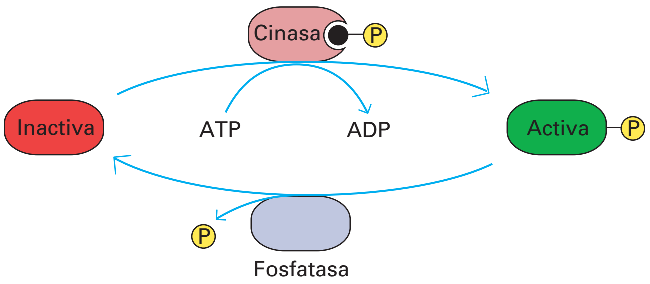
3

La generación de segundo mensajero lleva la señal al interior de la célula


P
Sustrato (inactivo)
Segundo mensajero
Activación de componentes de la vía

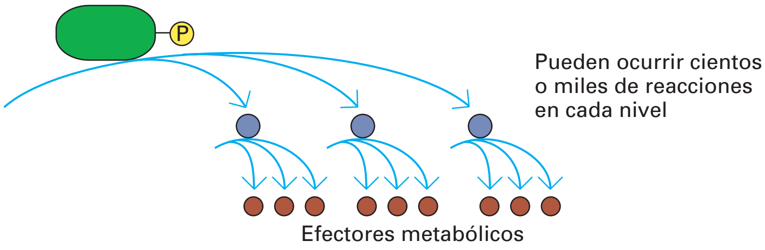
4

Los ciclos de fosforilación/desfosforilación bajo control de la vía de señalización activan/desactivan componentes adicionales de la vía


Cinasa
P
Inactiva
ATP
ADP
Activa
P
P
Fosfatasa

5

Cascadas enzimáticas amplifican la señal, convirtiendo moléculas a sus formas activas


P
Pueden ocurrir cientos o miles de reacciones en cada nivel
Efectores metabólicos

inmunitarias innatas, las adaptativas no son iguales en todos los miembros de una especie, sino que son respuestas a retos antigénicos específicos. La inmunidad adaptativa posee cuatro atributos característicos:

- Especificidad antigénica
- Diversidad
- Memoria inmunitaria
- Reconocimiento de lo propio y lo extraño

La **especificidad antigénica** del sistema inmunitario adaptativo permite reconocer diferencias sutiles entre los antígenos. Los anticuerpos pueden distinguir entre dos moléculas proteínicas que difieren sólo en un aminoácido. El sistema inmunitario es capaz de generar una enorme *diversidad* de moléculas de reconocimiento, lo cual posibilita identificar miles de millones de estructuras únicas en antígenos extraños. Esta capacidad contrasta con el caso de las moléculas de reconocimiento de patrón del sistema innato, que reconocen clases amplias de microorganismos con base en estructuras moleculares presentes en ellos. El sistema adaptativo puede reconocer un tipo individual de microorganismo y distinguir entre individuos de esta especie con variaciones genéticas mínimas.

Una vez que el sistema inmunitario adaptativo reconoce y responde a un antígeno muestra *memoria inmunitaria*; es decir, un segundo encuentro con el mismo antígeno induce un estado mucho mayor de inmunorreactividad. Debido a este atributo, el sistema inmunitario puede conferir inmunidad durante toda la vida contra muchos agentes infecciosos después de un contacto inicial. Por último, el sistema inmunitario reacciona en condiciones normales sólo a antígenos extraños, lo que indica que es capaz de *reconocer entre lo propio y lo extraño.* La capacidad del inmunosistema de diferenciar lo propio de lo ajeno y reaccionar sólo a moléculas extrañas es esencial. Como se describe más adelante, la incapacidad de tal reconocimiento lleva a una respuesta inapropiada a moléculas propias y puede ser letal.

Linfocitos y células presentadoras de antígeno cooperan en la inmunidad adaptativa

Una reacción inmunitaria eficaz incluye dos grupos principales de células: *linfocitos T* y *células presentadoras de antígeno.* Los linfocitos son uno de muchos tipos de glóbulos blancos que se producen en la médula ósea por el proceso de hematopoyesis (cap. 2). Salen de la médula ósea, circulan en los sistemas sanguíneo y linfático y residen en diversos órganos linfoides. Debido a que producen y exhiben receptores de superficie celular que unen antígeno, los linfocitos median los atributos inmunitarios definitorios de especificidad, diversidad, memoria y autorreconocimiento. En este capítulo se describen de manera sinóptica, y con mayor detalle en capítulos siguientes, las dos poblaciones principales de linfocitos: **células B** y **células T**.

Células B

Las células B o linfocitos B maduran dentro de la médula ósea; cuando la abandonan, cada una expresa un receptor de unión a antígeno único en su membrana (fig. 1-7). Este receptor de unión a antígeno o receptor de célula B es una **molécula de anticuerpo** unida a la membrana (fig. 1-7b, c). Los anticuerpos

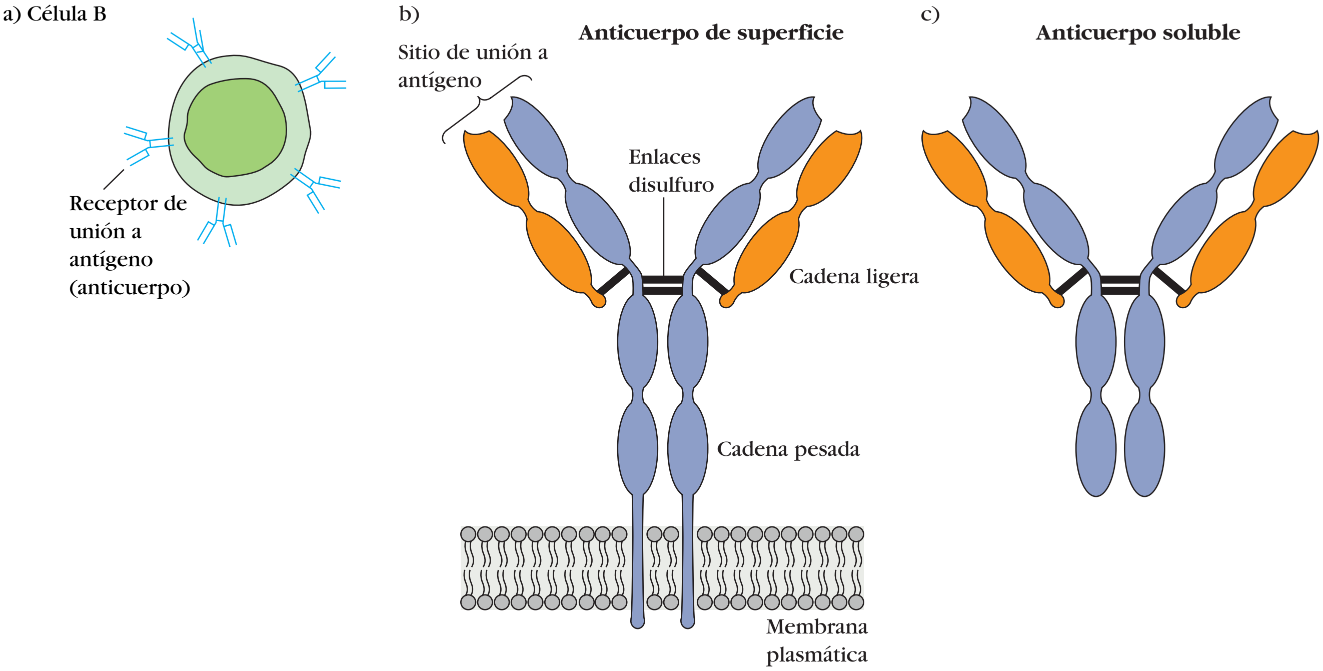


FIGURA 1-7 **Célula B.** a) Las superficies de las células B albergan unas 10^5 moléculas de anticuerpo ligado a membrana por célula. Todas las moléculas de anticuerpo en una célula B dada tienen la misma especificidad antigénica y pueden interactuar directamente con antígeno. b) Anticuerpo ligado a membrana y soluble (secretado) que muestra las cadenas pesadas y ligeras. c) Nótese que la forma soluble carece de las secuencias que se unen a la membrana celular. (Los óvalos en el diagrama representan pliegues característicos en la proteína llamados dominios Ig, que se consideran en el capítulo 4.)

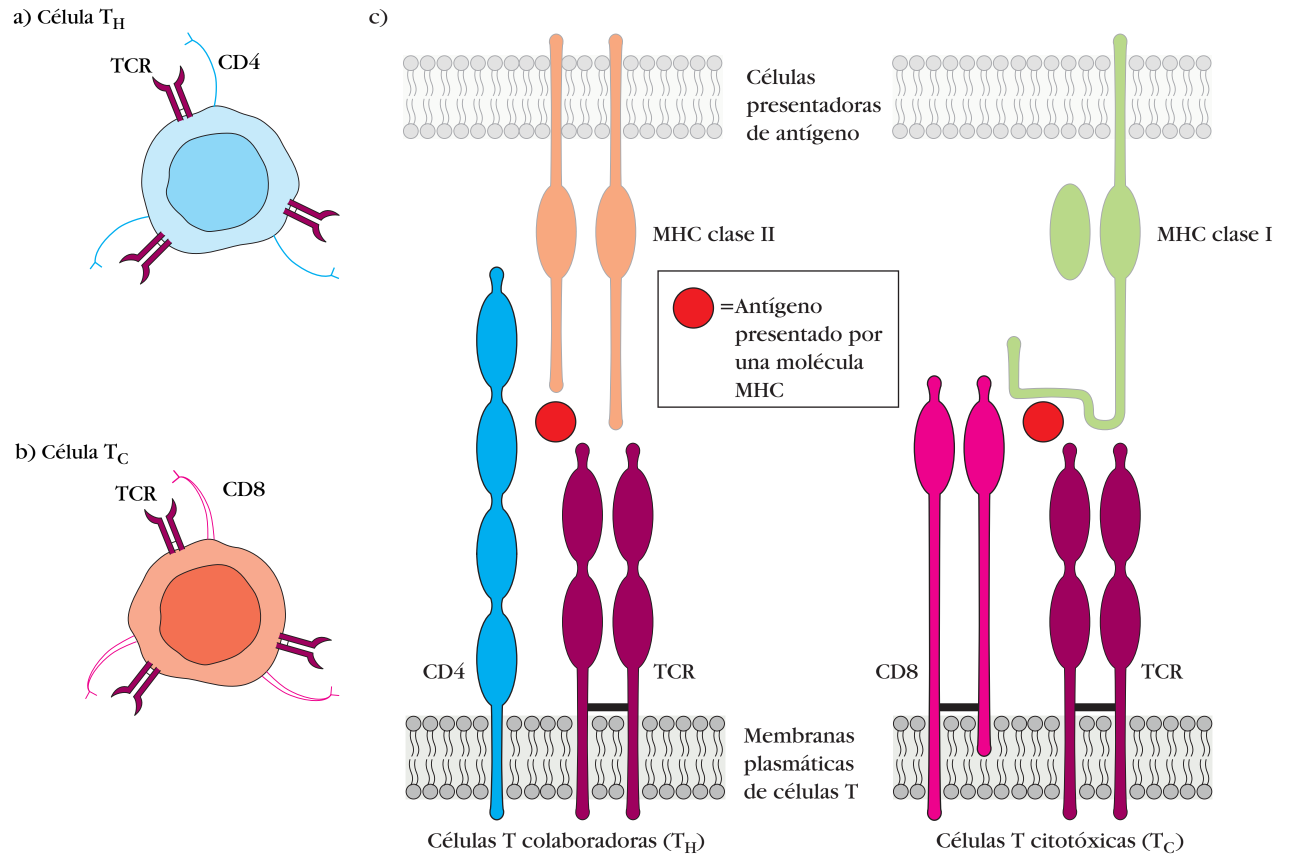

a) Célula T_H
TCR
CD4
b) Célula T_C
TCR
CD8
c)
Células presentadoras de antígeno
MHC clase II
MHC clase I
=Antígeno presentado por una molécula MHC
CD4
TCR
CD8
TCR
Membranas plasmáticas de células T
Células T colaboradoras (T_H)
Células T citotóxicas (T_C)

FIGURA 1-8 **Células T.** El receptor de célula T (TCR), una molécula de fijación de antígeno, es clave para el funcionamiento de los linfocitos T. En general, las células T que portan CD4 (células CD4$^+$) actúan como a) linfocitos colaboradores, y b) las células CD8$^+$ actúan como células citotóxicas. c) Las células CD4$^+$ sólo reconocen antígeno unido a moléculas MHC clase II en células presentadoras de antígeno. Las células CD8$^+$ sólo reconocen antígeno asociado a moléculas MHC clase I. Ambos tipos de células T expresan alrededor de 10^5 moléculas idénticas del receptor de célula T de unión a antígeno por célula, todas con la misma especificidad antigénica. (Los óvalos en los diagramas representan pliegues característicos en la proteína, que se consideran en el capítulo 4.)

son glucoproteínas que constan de dos cadenas polipeptídicas pesadas idénticas y dos ligeras también idénticas. Cada cadena pesada está unida a una ligera por enlaces disulfuro, y los pares de cadenas pesada y ligera se conservan unidos entre sí mediante enlaces disulfuro adicionales. Los extremos amino terminales de los pares de cadenas pesada y ligera forman una hendidura dentro de la cual se unen antígenos. Cuando una célula B virgen o inocente (que no ha encontrado antes algún antígeno) halla por primera vez el antígeno que corresponde a su anticuerpo unido a la membrana, la unión del antígeno al anticuerpo hace que la célula se divida con rapidez y su progenie se diferencie en **células B de memoria** y **células B efectoras** llamadas **células plasmáticas**. Las células B de memoria tienen un lapso de vida más prolongado que las células vírgenes y expresan el mismo anticuerpo unido a membrana que la célula B original. Las células plasmáticas producen el anticuerpo en una forma que puede secretarse (fig. 1-7b, derecha) y tienen poco o nada de anticuerpo unido a membrana. Aunque las células plasmáticas sólo viven unos cuantos días, secretan cantidades enormes de anticuerpos durante este período. Una célula plasmática individual puede liberar cientos a miles de moléculas de anticuerpo por segundo. Los anticuerpos secretados son las principales moléculas efectoras de la inmunidad humoral.

Células T

Las células T también se generan en la médula ósea. A diferencia de las células B, que maduran dentro de ésta, las células T migran a la glándula timo para madurar. Las células T en maduración expresan en su membrana una molécula de unión a antígeno única, denominada **receptor de célula T** (**TCR**, del inglés *T-cell receptor*). Existen dos subpoblaciones de células T bien definidas: **células T colaboradoras (T_H)** y **células T citotóxicas (T_C)**. Ambos tipos (fig. 1-8a y b) pueden distinguirse entre sí por la presencia de glucoproteínas de membrana **CD4** o **CD8** en su superficie. Las células T que muestran CD4 suelen funcionar como células T_H, en tanto que las que exhiben CD8 lo hacen casi siempre como células T_C (cap. 2). Un tercer tipo recién caracterizado de célula T, conocida como **linfocito T regulador (T_{reg})**, porta CD4 en su superficie pero puede distinguirse de las células T_H y T_C por marcadores de superficie asociados a su fase de activación.

A diferencia de los anticuerpos unidos a membrana en las células B, que reconocen antígenos libres, la mayoría de los receptores de célula T únicamente puede identificar antígenos unidos a proteínas de membrana celular llamadas **moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad** (**MHC**, del inglés *major histocompatibility complex*). Las moléculas del MHC (o simplemente moléculas MHC) son glucoproteínas polimórficas (diversas desde el punto de vista genético) que se encuentran en las membranas celulares (cap. 8). Existen dos tipos principales de moléculas MHC: moléculas MHC clase I, que casi todas las células nucleadas de las especies de vertebrados expresan, y moléculas MHC clase II, que sólo las **células presentadoras de antígeno** (**APC**, del inglés *antigen-presenting cells*) expresan (fig. 1-8c). Cuando una célula T virgen encuentra antígeno asociado con una molécula MHC en una célula, prolifera y se diferencia en células T de memoria y varias células T efectoras.

Una vez que la célula T_H reconoce un complejo de antígeno y molécula MHC clase II e interactúa con él, se activa: experimenta una transformación metabólica y comienza a secretar diversas citocinas. Las citocinas secretadas tienen una función importante en la activación de células B, células T_C, macrófagos y varios tipos celulares más que intervienen en la inmunoreacción. Las diferencias en los tipos de citocinas producidas por células T_H activadas tienen como resultado diferentes patrones de inmunorreacción. Una posible respuesta es la inducción de un cambio en las células T_C para formar **linfocitos T citotóxicos** (**CTL**, del inglés *cytotoxic T lymphocytes*), los cuales exhiben actividad citotóxica o de destrucción celular. El CTL tiene una función vital en la vigilancia de las células del cuerpo y la eliminación de cualquiera que exhiba antígeno, como las células infectadas por virus, las células tumorales y las células de un injerto de tejido extraño.

Las células presentadoras de antígeno interactúan con células T

La activación de las ramas humoral y mediada por células del sistema inmunitario requiere citocinas producidas por linfocitos T_H. Es esencial que se regule de modo cuidadoso la activación de células T_H por sí mismas, dado que una respuesta inapropiada del linfocito T a componentes propios puede tener consecuencias autoinmunitarias letales. Una salvaguarda contra la actividad descontrolada de células T_H es que sus receptores de antígeno sólo pueden reconocer antígeno que se exhibe junto con moléculas MHC clase II en la superficie de células presentadoras de antígeno. Estas células especializadas, que incluyen macrófagos, linfocitos B y células dendríticas, se distinguen por dos propiedades: a) expresan moléculas MHC clase II en sus membranas y b) son capaces de producir citocinas que causan la activación de células T_H.

Las células presentadoras de antígeno primero internalizan antígeno, sea por fagocitosis o endocitosis, y a continuación exhiben una parte de dicho antígeno en su membrana unido a una molécula MHC clase II. El linfocito T_H interactúa con el complejo de antígeno y molécula MHC clase II en la membrana de la célula presentadora de antígeno (fig. 1-9). Entonces esta célula produce una señal adicional que conduce a la activación de la célula T_H.

Las inmunorreacciones humoral y celular tienen distintas funciones efectoras

Como ya se mencionó, las reacciones inmunitarias pueden dividirse en humoral y mediada por células. La humoral se refiere a la inmunidad que puede conferirse a un individuo no inmune mediante la administración de anticuerpos séricos de una persona inmune. En contraste, la inmunidad mediada por células sólo puede transferirse con la administración de células T de un sujeto inmune.

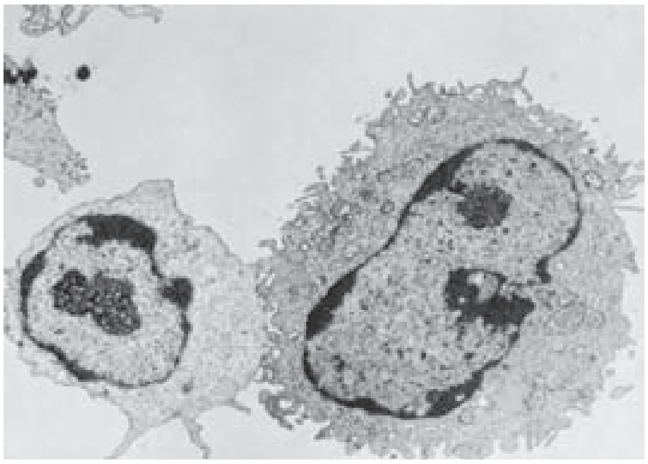


FIGURA 1-9 Micrografía electrónica de un macrófago presentador de antígeno (*derecha*) al asociarse a un linfocito T. *[Tomada de A.S. Rosenthal et al., 1982,* en Phagocytosis—Past and future, *Academic Press, p. 239.]*

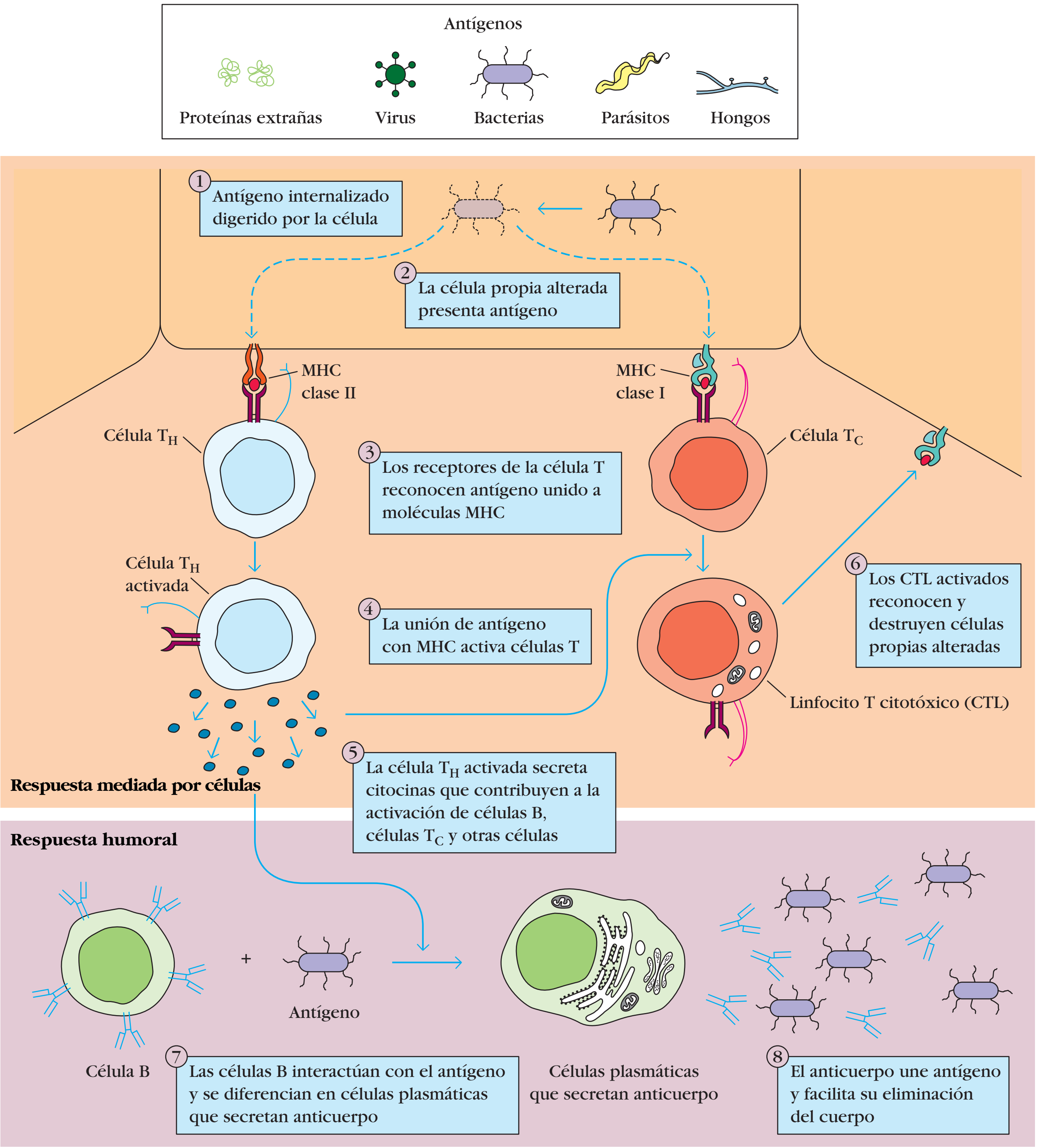
La rama humoral del sistema inmunitario funciona cuando sucede la interacción de las células B con antígeno y su proliferación y diferenciación subsecuentes en células plasmáticas que secretan anticuerpo (fig. 1-10). El anticuerpo actúa como efector de la respuesta humoral, se une a antígeno y neutraliza o facilita su eliminación. Un antígeno cubierto de anticuerpo puede eliminarse de varias maneras. Por ejemplo, el anticuerpo puede enlazar en forma cruzada varios antígenos y formar agregados que las células fagocíticas ingieren con mayor facilidad. La unión de anticuerpo a antígeno en un microorganismo también puede activar el sistema de complemento, que tiene como resultado la lisis del microorganismo. El anticuerpo también puede neutralizar toxinas o partículas víricas y recubrirlas, lo que impide que se unan a células del hospedador.

Las células T efectoras generadas en respuesta a antígeno tienen a su cargo la inmunidad mediada por células (fig. 1-10). Las células T_H activadas y los linfocitos T citotóxicos (CTL) sirven como células efectoras en las reacciones inmunitarias mediadas por células. Las citocinas secretadas por células T_H pueden activar varias células fagocíticas y permitirles que fagociten y destruyan microorganismos con mayor eficacia. Este tipo de respuesta inmunitaria mediada por células es en especial importante para liberar al hospedador de bacterias y protozoarios contenidos en células hospedador infectadas. Los CTL participan en las reacciones inmunitarias mediadas por células y destruyen células propias alteradas; tienen una función esencial en la destrucción de células infectadas por virus y células tumorales.

Los receptores de antígeno de los linfocitos B y T son diversos

El receptor de unión a antígeno ligado a la membrana (es decir, el anticuerpo) expresado por la célula determina la especificidad antigénica de cada célula B. A medida que madura la célula B en la médula ósea, se crea su especificidad por reordenamientos aleatorios de una serie de segmentos del gen que codifica la molécula de anticuerpo (cap. 5). En la madurez, cada célula B posee un gen funcional único que codifica la cadena pesada de anticuerpo y un gen funcional único que codifica la cadena ligera de

FIGURA 1-10 PARA VISUALIZACIÓN DE CONCEPTOS: Ramas humoral y mediada por células del sistema inmunitario


Antígenos
Proteínas extrañas
Virus
Bacterias
Parásitos
Hongos
① Antígeno internalizado digerido por la célula
② La célula propia alterada presenta antígeno
MHC clase II
MHC clase I
Célula T_H
Célula T_C
③ Los receptores de la célula T reconocen antígeno unido a moléculas MHC
Célula T_H activada
④ La unión de antígeno con MHC activa células T
⑥ Los CTL activados reconocen y destruyen células propias alteradas
Linfocito T citotóxico (CTL)
⑤ La célula T_H activada secreta citocinas que contribuyen a la activación de células B, células T_C y otras células
Respuesta mediada por células
Respuesta humoral
+
Antígeno
Célula B
⑦ Las células B interactúan con el antígeno y se diferencian en células plasmáticas que secretan anticuerpo
Células plasmáticas que secretan anticuerpo
⑧ El anticuerpo une antígeno y facilita su eliminación del cuerpo

En la respuesta humoral interactúan células B con antígeno y, a continuación, se diferencian en células plasmáticas que secretan anticuerpo. El anticuerpo secretado se une al antígeno y facilita su eliminación del cuerpo. En la respuesta mediada por células varias subpoblaciones de células T reconocen antígeno presentado en células propias. Las células T_H responden al antígeno y producen citocinas. Las células T_C reaccionan al antígeno y evolucionan a linfocitos T citotóxicos (CTL), que median la destrucción de células propias alteradas (p. ej., células infectadas por virus).

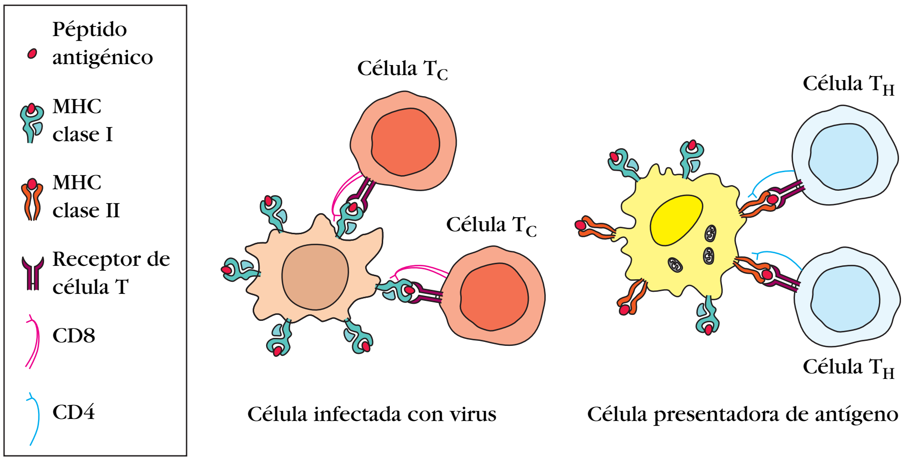


FIGURA 1-11 Función de las moléculas MHC en el reconocimiento de antígeno por células T. Las moléculas MHC clase I se expresan en casi todas las células nucleadas. Las moléculas MHC clase II sólo lo hacen en células presentadoras de antígeno. Las células T que sólo reconocen péptidos antigénicos, que se muestran con una molécula MHC clase II, suelen funcionar como células T colaboradoras (T_H). Las células T que sólo reconocen péptidos antigénicos, que se muestran con una molécula MHC clase I, por lo general actúan como células T citotóxicas (T_C).

anticuerpo. Todas las moléculas de anticuerpo en un linfocito B determinado tienen especificidad idéntica, lo que confiere a cada linfocito B y a la clona de células hijas a la que da lugar una especificidad precisa para un epítopo único en cada antígeno. Por esta razón, se dice que la célula B madura está **antigénicamente comprometida** o **dedicada**.

El reordenamiento aleatorio del gen durante la maduración de la célula B en la médula ósea crea un número enorme de diferentes especificidades antigénicas. Se estima que la población de células B resultante, que consiste en células B individuales que expresan cada una un anticuerpo único, muestra en conjunto más de 10^{10} diferentes especificidades antigénicas. Un proceso de selección en la médula ósea elimina cualquier célula B con anticuerpo unido a membrana que reconozca componentes propios. (Esto se considera en detalle en el capítulo 11.) Tal proceso de selección ayuda a asegurar que no se propaguen anticuerpos autorreactivos (autoanticuerpos).

Los atributos de especificidad y diversidad también caracterizan al receptor de célula T (TCR) de unión a antígeno en los linfocitos T. Al igual que la maduración de la célula B, el proceso de maduración de la célula T incluye reordenamientos aleatorios de una serie de segmentos del gen que codifican los receptores de unión a antígeno de la célula (cap. 9). Cada linfocito T expresa alrededor de 10^5 receptores, y todos los receptores en la célula y su progenie clonal tienen una especificidad de antígeno idéntica. El reordenamiento aleatorio de los genes que codifican TCR es capaz de generar especificidades antigénicas únicas en el orden de 10^9.

Las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad unen péptidos antigénicos

El complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) es un complejo genético grande con múltiples loci. Este grupo de genes recibió atención por primera vez debido a que actúa como barrera contra el trasplante de tejidos. La incompatibilidad de genes del MHC ocasiona el rechazo de tejidos y órganos trasplantados, de aquí el nombre histocompatibilidad. Los loci del MHC codifican dos clases mayores de glucoproteínas unidas a membrana: **moléculas MHC clase I** y **clase II**. Como se comentó con anterioridad, las células T_H suelen reconocer antígeno asociado con moléculas clase II, en tanto que las células T_C por lo general identifican antígeno asociado con moléculas clase I (fig. 1-11). Las moléculas MHC funcionan como moléculas de reconocimiento de antígeno, pero no poseen la especificidad fina para antígeno característica de los anticuerpos y receptores de célula T. Por el contrario, cada molécula MHC puede unirse a una gama de **péptidos antigénicos** derivados principalmente de la degradación de moléculas proteínicas. En las moléculas MHC clase I y clase II hay una hendidura dentro de la cual se asienta el péptido antigénico y se presenta a linfocitos T (fig. 1-11).

La selección de antígeno por los linfocitos causa expansión clonal

Un animal maduro inmunocompetente (con capacidad inmunitaria) contiene un gran número de clonas de linfocitos T y B reactivos a antígeno; la especificidad del receptor de unión a antígeno en la membrana de los linfocitos de la clona determina la especificidad antigénica de cada una de estas clonas. Como se comentó, la especificidad de cada linfocito T y B se establece antes de su contacto con el antígeno por reordenamientos aleatorios en el gen durante la maduración en el timo o la médula ósea.

La función del antígeno se torna crítica cuando éste interactúa con linfocitos T y B maduros antigénicamente comprometidos y los activa; esto provoca la expansión de la población de células con una especificidad antigénica determinada. En este proceso de **selección clonal**, un antígeno se une a una célula T o B dada y la estimula para que se divida repetidas veces en una

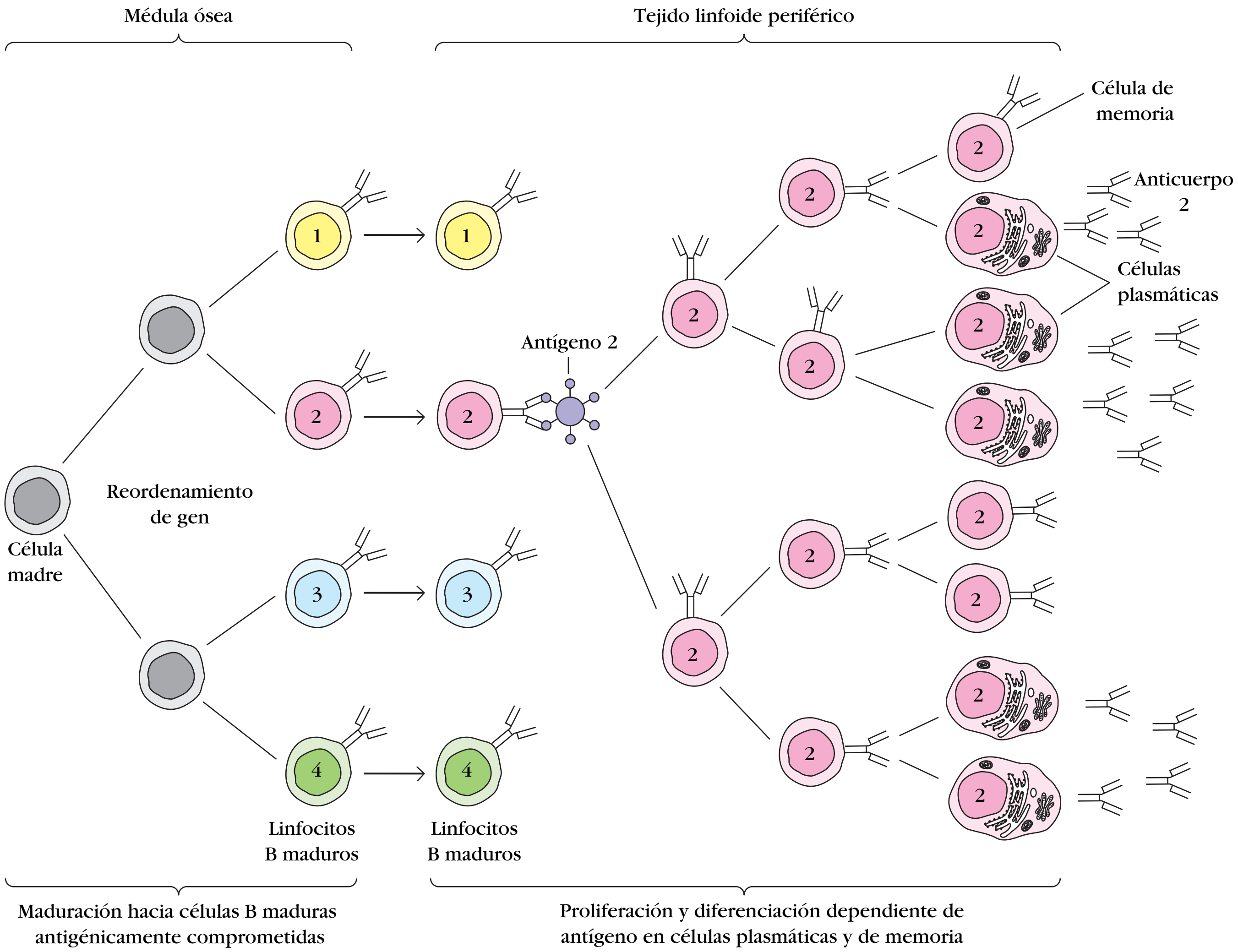

Médula ósea
Tejido linfoide periférico
Célula de memoria
Anticuerpo 2
Células plasmáticas
Antígeno 2
Reordenamiento de gen
Célula madre
1
2
3
4
Linfocitos B maduros
Linfocitos B maduros
Maduración hacia células B maduras antigénicamente comprometidas
Proliferación y diferenciación dependiente de antígeno en células plasmáticas y de memoria

FIGURA 1-12 Maduración y selección clonal de linfocitos B. La maduración, que ocurre en ausencia de antígeno, produce células B antigénicamente comprometidas, cada una de las cuales expresa anticuerpo con especificidad antigénica única (indicada por 1, 2, 3 y 4). Ocurre selección clonal cuando un antígeno se une a una célula B cuyas moléculas de anticuerpo unidas a membrana son específicas para epítopos en dicho antígeno. La expansión clonal de una célula B activada por antígeno (número 2 en este ejemplo) conduce a una clona de células B de memoria y células B efectoras, llamadas células plasmáticas; todas las células en la clona expandida son específicas para el antígeno original. Las células plasmáticas secretan anticuerpo que reacciona con el antígeno activador. Se observan procesos similares en la población de linfocitos T, cuyos resultados son clonas de células T de memoria y células T efectoras; estas últimas incluyen células T_H activadas, que secretan citocinas, y linfocitos T citotóxicos (CTL).

clona de células con la misma especificidad antigénica que la célula original (fig. 1-12).

La selección clonal proporciona un marco estructural para comprender la especificidad y el reconocimiento de lo propio y lo extraño que es característico de la inmunidad adaptativa. La especificidad se demuestra porque sólo linfocitos cuyos receptores son específicos para un epítopo determinado en un antígeno se expanden clonalmente y por tanto se movilizan para oponer una reacción inmunitaria. La discriminación de lo propio y lo extraño se efectúa por la eliminación, durante el desarrollo, de linfocitos que llevan receptores autorreactivos o por la supresión funcional de estas células si alcanzan la madurez.

La memoria inmunitaria es otra consecuencia de la selección clonal. Durante ésta se amplifica en grado considerable el número de linfocitos específicos para un antígeno determinado. Más aún, muchos de estos linfocitos, que se denominan células de memoria, tienen al parecer un lapso de vida más prolongado que los linfocitos vírgenes de los cuales provienen. El encuentro inicial de un linfocito virgen con capacidad inmunitaria con un antígeno induce una **inmunorreacción primaria**; un contacto posterior del hospedador con antígeno causa una **inmunorreacción secundaria** más rápida e intensa. La población amplificada de células de memoria explica la rapidez e intensidad que distingue a una reacción secundaria de la primaria.

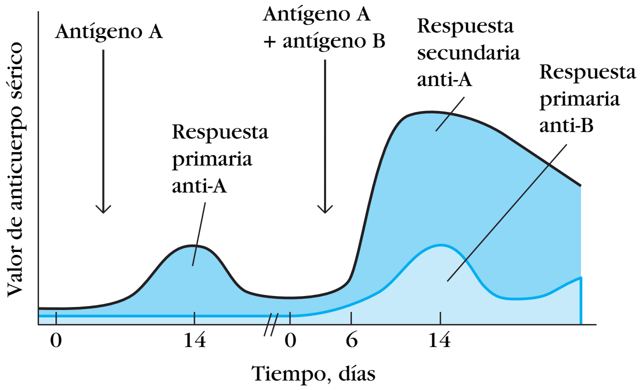


FIGURA 1-13 Las diferencias en las respuestas primaria y secundaria a un antígeno inyectado (respuesta humoral) y un injerto cutáneo (respuesta mediada por células) reflejan el fenómeno de memoria inmunitaria. Cuando se inyecta un antígeno a un animal, genera una reacción primaria de anticuerpo sérico de baja magnitud y duración corta, que llega al máximo hacia los 10 a 17 días. Una segunda inmunización con el mismo antígeno activa una respuesta secundaria de mayor magnitud, que llega al máximo en menos tiempo (dos a siete días) y dura más tiempo (meses a años) que la respuesta primaria. Compárese la respuesta secundaria al antígeno A con la respuesta primaria al antígeno B administrados a los mismos ratones (parte sombreada azul claro).

En la rama humoral del sistema inmunitario, el antígeno induce la proliferación clonal de linfocitos B en células plasmáticas que secretan anticuerpo y células B de memoria. Como se observa en la figura 1-13, la respuesta primaria tarda alrededor de cinco a siete días antes de que comiencen a aumentar las concentraciones de anticuerpo. Este retraso es el tiempo requerido para la activación de células B vírgenes por antígeno y células T_H y para la proliferación y diferenciación subsecuentes de las células B activadas en células plasmáticas. Las concentraciones de anticuerpo alcanzan su punto máximo en la respuesta primaria hacia los 14 días y luego comienzan a decrecer a medida que las células plasmáticas mueren. En la reacción secundaria, el retraso es mucho más corto (sólo uno a dos días), las concentraciones de anticuerpo son mucho más altas y se sostienen por mucho más tiempo. La respuesta secundaria refleja la actividad de la población de células B de memoria expandida clonalmente. Estas células de memoria responden al antígeno con mayor rapidez que las células B vírgenes; además, debido a que existen muchas más células de memoria que linfocitos B vírgenes para la respuesta primaria, en la reacción secundaria se generan más células plasmáticas; por consiguiente, las concentraciones de anticuerpo son 100 a 1 000 veces más altas.

En la rama del sistema inmunitario mediada por células, el reconocimiento de un complejo de antígeno y MHC por un linfocito T maduro específico induce la proliferación clonal en varias células T con funciones efectoras (células T_H y CTL) y células T de memoria. Como en el caso de las inmunorreacciones humorales, las respuestas secundarias mediadas por células son más rápidas y más intensas que las primarias.

Disfunción inmunitaria y sus consecuencias

El anterior panorama general de la inmunidad innata y la adaptativa ilustra un sistema interactivo de múltiples componentes que protege al hospedador contra la invasión por agentes que causan enfermedades infecciosas y contra células alteradas que podrían reproducirse de manera descontrolada y producir cáncer. Este cuadro general no sería completo si no se mencionara que el sistema inmunitario puede funcionar de manera incorrecta. Algunas veces es incapaz de dar protección adecuada al hospedador o dirige de modo erróneo sus actividades para causar malestar, enfermedades debilitantes o incluso la muerte. Existen varias manifestaciones comunes de disfunción inmunitaria:

- Alergia y asma
- Rechazo de un injerto y enfermedad de injerto contra hospedador
- Enfermedad autoinmunitaria
- Inmunodeficiencia

La alergia y el asma son efectos de una respuesta inmunitaria inapropiada, con frecuencia a antígenos comunes como polen, alimentos o caspa de animales. La posibilidad de que ciertas sustancias agudicen la sensibilidad en lugar de proteger fue reconocida hacia 1902 por Charles Richet, quien intentó inmunizar a perros contra las toxinas de un tipo de medusa, *Physalia*. Este investigador y su colega, Paul Portier, observaron que los perros expuestos a dosis subletales de la toxina reaccionaban casi de manera instantánea y letal a un contacto ulterior con cantidades diminutas de la toxina. Richet concluyó que una inmunización o vacunación exitosa creaba *filaxis,* o protección, y que podía observarse el resultado opuesto, **anafilaxis**, en la cual la exposición al antígeno podía precipitar una sensibilidad potencialmente letal a él si se repetía la exposición. Richet recibió el premio Nobel en 1913 por su descubrimiento de la reacción anafiláctica.

Por fortuna, casi ninguna reacción alérgica en seres humanos provoca la muerte con rapidez. Una respuesta alérgica o anafiláctica específica suele incluir un tipo de anticuerpo, llamado *inmunoglobulina E* (o, más a menudo, IgE). La unión de IgE a su antígeno específico (alergeno) libera sustancias que causan irritación e inflamación. Cuando una persona alérgica se expone a un alergeno, los síntomas pueden incluir estornudos, sibilancias y dificultad para respirar (asma); dermatitis o erupciones cutáneas (urticaria), y, en casos más extremos, ahogamiento debido al bloqueo de las vías respiratorias por inflamación (fig. 1-14). Una proporción considerable de los recursos para la salud se gasta en el cuidado de los pacientes que sufren alergia y asma. Estas dos últimas anomalías representan en Estados Unidos las

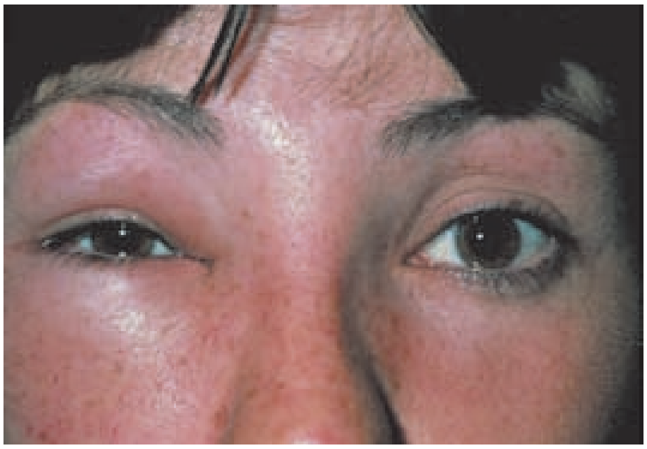


FIGURA 1-14 Paciente con inflamación del ojo derecho debida a los efectos de la reacción alérgica a una picadura de abeja. Tales reacciones de hipersensibilidad se deben a la sensibilización causada por la exposición previa al veneno de abeja. Las picaduras de este insecto pueden causar dolor, enrojecimiento y tumefacción, como se aprecia aquí, o provocar reacciones anafilácticas sistémicas que llevan a la muerte si no se tratan con rapidez. *[Dr. P. Marazzi/Photo Researchers.]*

razones más comunes para acudir al médico o visitar la sala de urgencias de un hospital (véase el enfoque clínico).

Cuando el sistema inmunitario encuentra células o tejido extraños, reacciona con intensidad para eliminar a los invasores del hospedador. Suele emitir la misma respuesta contra células mutantes propias, incluidas células cancerosas. Sin embargo, en algunos casos el trasplante de células u órgano de otra persona puede ser el único tratamiento posible para una enfermedad, aunque el sistema inmunitario lo tome como una invasión extraña. Por ejemplo, se estima que sólo en Estados Unidos más de 70 000 personas se beneficiarían con un trasplante de riñón. El hecho de que el sistema inmunitario ataque y rechace cualquier órgano trasplantado que reconozca como extraño constituye una barrera formidable que limita este tratamiento capaz de salvar la vida. Un peligro adicional del trasplante es que todas las células trasplantadas con capacidad inmunitaria (p. ej., cuando se trasplanta médula ósea para restablecer la actividad inmunitaria) pueden considerar al nuevo hospedador como ajeno y reaccionar contra él. Esta reacción, que se conoce como enfermedad de injerto contra hospedador, puede ser letal. La reacción de rechazo y la enfermedad de injerto contra hospedador pueden suprimirse con medicamentos, pero este tipo de terapéutica anula toda la función inmunitaria, de tal manera que el hospedador ya no es protegido por su sistema inmunitario y se torna susceptible a enfermedades infecciosas. Los estudios de trasplante han tenido un papel relevante en el desarrollo de la inmunología. Se concedió el premio Nobel a Karl Landsteiner (mencionado antes por su contribución al concepto de especificidad inmunitaria) en 1930 por el descubrimiento de los grupos sanguíneos ABO en el ser humano, lo que permitió llevar a cabo con seguridad transfusiones sanguíneas. En 1980 se distinguió a G. Snell, J. Dausset y B. Benacerraf por su descubrimiento del complejo mayor de histocompatibilidad, y en 1991 E. D. Thomas y J. Murray recibieron el premio Nobel por los adelantos en la inmunidad de trasplantes. El desarrollo de procedimientos que permitan que un órgano extraño sea aceptado sin suprimir la inmunidad a todos los antígenos sigue siendo un desafío para los inmunólogos actuales.

En ciertas personas, el sistema inmunitario falla porque pierde su capacidad de reconocer lo propio y lo extraño, lo cual propicia un ataque inmunitario en el hospedador. Este estado, llamado de **autoinmunidad**, puede ocasionar varias enfermedades crónicas debilitantes. Los síntomas de autoinmunidad difieren con los tejidos y órganos que se ataquen. Por ejemplo, la esclerosis múltiple se debe a un ataque autoinmunitario a cerebro y sistema nervioso central, en la enfermedad de Crohn la reacción se enfoca en los tejidos intestinales, y la artritis reumatoide supone la lesión de las articulaciones de brazos y piernas. Los factores genéticos y ambientales que desencadenan y sostienen una enfermedad autoinmunitaria son áreas muy activas de la investigación inmunológica, al igual que el desarrollo de mejores tratamientos.

Si cualesquiera de los múltiples componentes de las inmunidades innata o específica es defectuoso como consecuencia de alguna anormalidad genética, o si se pierde cualquier función inmunitaria a causa de daño por agentes químicos, físicos o biológicos, el hospedador sufre **inmunodeficiencia**. La gravedad del trastorno por inmunodeficiencia depende del número de componentes comprometidos. Un tipo común de inmunodeficiencia en Estados Unidos es una inmunodeficiencia selectiva, en la cual sólo se carece de un tipo de inmunoglobulina (IgA); los síntomas pueden consistir en aumento de determinados tipos de infecciones, o bien es posible que la deficiencia pase inadvertida. En contraste, una anormalidad más rara llamada **inmunodeficiencia combinada grave** (**SCID**, del inglés *severe combined immunodeficiency*), que afecta a células B y T, causa la muerte por infección a una edad temprana si no se trata. Desde el decenio de 1980, la forma más común de inmunodeficiencia es el síndrome de inmunodeficiencia adquirida, o SIDA, que resulta de la infección por un retrovirus, el virus de la inmunodeficiencia humana o VIH. En el SIDA este patógeno infecta y destruye las células T colaboradoras, y la consecuencia es un colapso del sistema inmunitario. Se estima que 40 millones de personas en el mundo padecen este trastorno, que suele ser letal en el transcurso de ocho a 10 años después de la infección. Aunque ciertos tratamientos pueden prolongar la vida de los pacientes con SIDA, no se conoce una curación para la enfermedad.

Este capítulo es una breve introducción al sistema inmunitario y proporciona un esquema sinóptico del modo en que este complejo sistema protege al hospedador de la enfermedad. En los capítulos siguientes se examinan la estructura y función de células, órganos y moléculas individuales que lo caracterizan. Se describen los conocimientos actuales acerca de la forma en que interactúan los componentes de la inmunidad y los experimentos que permitieron descubrir estos mecanismos. Los temas de capítulos ulteriores son áreas específicas de la inmunología aplicada, como la inmunidad a enfermedades infecciosas, el cáncer, las prácticas actuales de vacunación y los principales tipos de disfunción inmunitaria.

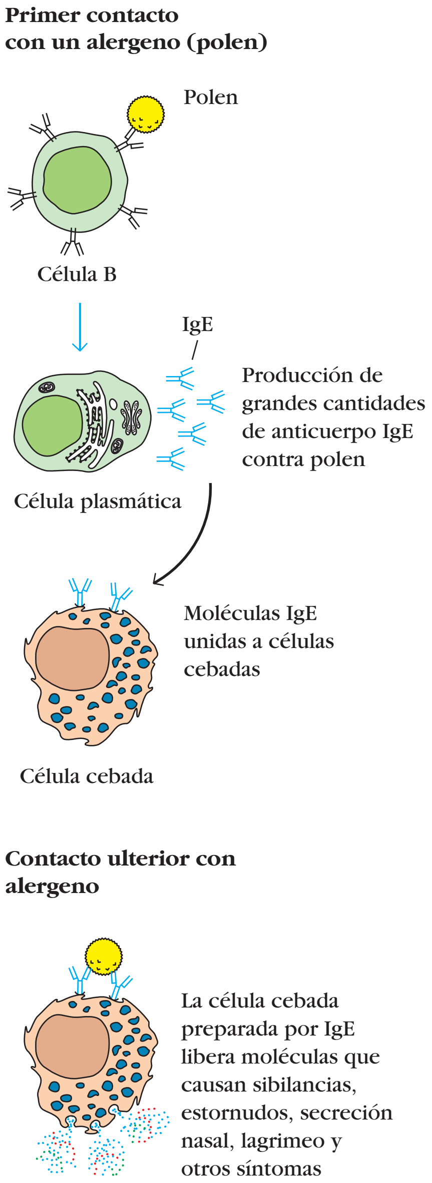
ENFOQUE CLÍNICO

Alergia y asma como problemas graves de salud pública

Aunque el sistema inmunitario protege al hospedador de infecciones y cáncer, las respuestas inapropiadas de este sistema pueden conducir a enfermedades. Entre los resultados comunes de la disfunción inmunitaria se encuentran alergias y asma, ambos problemas de salud pública relevantes. En el capítulo 15 se describen detalles de los mecanismos que sustentan las reacciones alérgicas y asmáticas a antígenos (o alergenos) ambientales. Dicho en forma simple, las reacciones alérgicas son respuestas a estímulos antigénicos que inducen inmunidad basada sobre todo en la clase IgE de inmunoglobulina. La exposición al antígeno (o alergeno) desencadena la liberación de moléculas mediada por IgE que causa síntomas variables, desde estornudo y dermatitis hasta inflamación de los pulmones en un ataque de asma. En la figura adjunta se muestra la secuencia de fenómenos de una reacción alérgica.

Las molestias por alergias comunes, por ejemplo al polen, son breves, y consisten en estornudos y secreción nasal; estos problemas pueden parecer inocuos si se comparan con los efectos de cáncer, paro cardíaco o infecciones que ponen en peligro la vida. Una reacción alérgica más grave es el asma, una afección crónica de los pulmones en que la inflamación, mediada por antígenos ambientales o infecciones, causa intensa dificultad respiratoria. Según las estadísticas para 2002 de los Centers for Disease Control, de Estados Unidos, 20 millones de personas padecen asma en ese país, y cada año 12 millones sufren una crisis asmática. Se registran alrededor de 5 000 muertes por año a causa del asma. En los últimos dos decenios se duplicó la prevalencia de asma en el mundo occidental.[*]

La importancia de la alergia como problema de salud pública se destaca por el hecho de que las cifras anuales de visitas a médicos por hipertensión, exámenes médicos sistemáticos o embarazo normal son menores que el número de consultas por padecimientos alérgicos. En realidad, la razón más común para acudir a una sala de urgencias de un hospital es un ataque de asma, que representa un tercio de todas las visitas. Además de los sujetos tratados en salas de urgencias, en el último año se realizaron 160 000 hospitalizaciones por asma, con un internamiento promedio de tres a cuatro días.


Primer contacto con un alergeno (polen)
Polen
Célula B
IgE
Producción de grandes cantidades de anticuerpo IgE contra polen
Célula plasmática
Moléculas IgE unidas a células cebadas
Célula cebada
Contacto ulterior con alergeno
La célula cebada preparada por IgE libera moléculas que causan sibilancias, estornudos, secreción nasal, lagrimeo y otros síntomas

Secuencia de fenómenos que conducen a una respuesta alérgica. Cuando el anticuerpo que se produce por contacto con un alergeno es IgE, esta clase de anticuerpo reacciona a través de su región constante con una célula cebada. La reacción ulterior del sitio de unión del anticuerpo con el alergeno estimula a la célula cebada a la cual se unió IgE para que secrete moléculas que inducen los síntomas alérgicos.

Aunque son afectadas personas de todas las edades y razas, la mortalidad por asma es 3.5 veces mayor en niños afroestadounidenses. Aún se desconocen las razones de los incrementos del número de casos de asma y la tasa más alta de mortalidad en este grupo étnico de población, aunque es posible que se descubran algunos indicios al valorar los estudios recientes de factores genéticos en padecimientos alérgicos (véase el enfoque clínico del cap. 15).

Un problema de salud cada vez más relevante es la alergia a los alimentos, en especial a cacahuates y nueces (almendras, marañón y nuez de nogal).[†] Alrededor de tres millones de estadounidenses son alérgicos a estos alimentos, que son las causas principales de reacciones alérgicas (anafilácticas) letales o casi letales a los alimentos. Si bien evitar estas semillas puede prevenir consecuencias perjudiciales en personas alérgicas, la adición generalizada de proteína de cacahuate (maní) y productos de nueces a una diversidad de alimentos lo dificulta mucho. Cuando menos 50% de las reacciones de consideración se deben a exposiciones accidentales a cacahuates, nueces o sus derivados. Esto ha promovido movimientos controversiales para prohibir los cacahuates en escuelas y aviones.

Por lo general, la anafilaxis ocurre en el transcurso de una hora tras la ingestión del alergeno alimenticio, y el tratamiento más eficaz consiste en inyectar adrenalina. Quienes son propensos a ataques anafilácticos suelen llevar consigo adrenalina inyectable para usarla en caso de exposición.

Además del sufrimiento y la ansiedad originados por reacciones inmunitarias o alergias inapropiadas a antígenos ambientales, existe un costo exorbitante (que se estima en casi 20 000 millones de dólares) en términos del tiempo de trabajo perdido de los afectados y quienes los cuidan. Estos costos justifican los extensos esfuerzos que llevan a cabo inmunólogos, alergólogos y clínicos para aliviar las molestias secundarias a estos trastornos.

---

[*] Holgate, S.T. The epidemic of allergy and asthma. *Nature* 1999, Supp. to vol. 402, B2.

[†] Hughes, D.A., and C. Mills, 2001. Food allergy: A problem on the rise. *Biologist* (London) **48:**201.

RESUMEN

- Inmunidad es el estado de protección contra microorganismos o sustancias extrañas (antígenos). Los vertebrados tienen dos tipos de inmunidad: innata y adaptativa.
- La inmunidad innata constituye una primera línea de defensa, que incluye barreras, células fagocíticas y moléculas que reconocen determinadas clases de patógenos.
- Las inmunidades innata y adaptativa operan de manera coordinada; la activación de la respuesta inmunitaria innata produce señales que estimulan una inmunorreacción adaptativa ulterior.
- Las respuestas inmunitarias adaptativas poseen cuatro atributos: especificidad, diversidad, memoria y reconocimiento de lo propio y lo extraño.
- El elevado grado de especificidad de la inmunidad adaptativa proviene de las actividades de moléculas (anticuerpos y receptores de célula T) que reconocen y fijan antígenos específicos.
- Los anticuerpos reconocen antígenos e interactúan de modo directo con ellos. Los receptores de célula T sólo reconocen al antígeno asociado con moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC).
- Las dos principales subpoblaciones de linfocitos T son las células T colaboradoras (T_H), $CD4^+$, y las células T citotóxicas (T_C), $CD8^+$, que dan origen a los linfocitos T citotóxicos (CTL).
- Las disfunciones del sistema inmunitario incluyen afecciones comunes como alergia o asma, así como inmunodeficiencia y autoinmunidad.

Bibliografía

Burnet, F.M. 1959. *The Clonal Selection Theory of Acquired Immunity*. Cambridge University Press, Cambridge, MA.

Cohen, S. G., and M. Samter. 1992. *Excerpts from Classics in Allergy*. Symposia Foundation, Carlsbad, CA.

Desour, L. 1922. *Pasteur and His Work* (translated by A.F. and B.H. Wedd). T. Fisher Unwin, London.

Kimbrell, D.A., and B. Beutler. 2001. The evolution and genetics of innate immunity. *Nature Reviews Genetics* **2**:256.

Kindt, T.J., and J.D. Capra. 1984. *The Antibody Enigma*. Plenum Press, New York.

Landsteiner, K. 1947. *The Specificity of Serologic Reactions*. Harvard University Press, Cambridge, MA.

Medawar, P. B. 1958. *The Immunology of Transplantation: The Harvey Lectures, 1956-1957*. Academic Press, New York.

Metchnikoff, E. 1905. *Immunity in the Infectious Diseases*. Macmillan, New York.

O'Neill, A. J. 2005. Immunity's early warning system. *Scientific American* **292**:38.

Paul, W., ed. 2003. *Fundamental Immunology*, 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.

Roitt, I. M. and P. J. Delves, eds. 1998. *An Encyclopedia of Immunology*, 2nd ed., vols. 1-4. Academic Press, London.

Sitios útiles de la red

http://www.aaaai.org/
El sitio de la American Academy of Allergy, Asthma and Immunology incluye una extensa biblioteca con información sobre enfermedades alérgicas.

http://www.aai.org
El sitio de red de la American Association of Immunologists contiene un gran cúmulo de información de interés para inmunólogos.

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed/
PubMed, la base de datos de la National Library of Medicine, con más de nueve millones de publicaciones, es la más amplia en el mundo para bibliografías biológicas y biomédicas. También es un sitio muy fácil de utilizar.

Preguntas de estudio

PREGUNTA DE ENFOQUE CLÍNICO Un individuo joven desarrolló una grave alergia a las nueces (semillas de árboles en general). ¿Qué precauciones son aconsejables para el paciente y sus padres? ¿Debe conocer este padecimiento el personal de la escuela?

1. ¿Por qué la vacuna de Jenner era superior a los métodos previos para conferir resistencia a la viruela?
2. ¿Confería inmunidad activa o pasiva contra el virus de la rabia el tratamiento usado por Pasteur? ¿Hay alguna manera de probarlo?
3. Inmediatamente después de nacer, a menudo los neonatos están en riesgo de infección por estreptococos del grupo B. Se ha propuesto una vacuna que se administra a mujeres en edad reproductiva. ¿Cómo puede ayudar a los bebés la inmunización de las madres?
4. Indique a cuál o cuáles ramas del sistema inmunitario se aplican las afirmaciones siguientes; utilice *H* para la rama humoral y *MC* para la rama mediada por células. Algunas afirmaciones pueden aplicarse a ambas ramas.
   a. Incluye moléculas MHC clase I
   b. Reacciona a infección vírica
   c. Incluye células T colaboradoras
   d. Incluye antígeno procesado
   e. Reacciona después de un trasplante de órgano
   f. Incluye células T citotóxicas
   g. Incluye células B
   h. Incluye células T
   i. Reacciona a una infección bacteriana extracelular
   j. Incluye anticuerpo secretado
   k. Destruye células propias infectadas por virus
5. La inmunidad adaptativa posee cuatro atributos característicos mediados por linfocitos. Indique esos cuatro atributos y explique brevemente cómo se originan.
6. Mencione tres características de una reacción inmunitaria secundaria que la diferencien de una primaria.
7. Compare y contraste los cuatro tipos de moléculas que unen antígeno utilizadas por el sistema inmunitario —anticuerpos,

receptores de célula T, moléculas MHC clase I y moléculas MHC clase II— en términos de las características siguientes:

a. Especificidad para antígeno
b. Expresión celular
c. Tipos de antígeno reconocidos

8. Llene los espacios en blanco en las afirmaciones siguientes con los términos más apropiados:

   a. _____________, ________________ y __________________ funcionan todas como células presentadoras de antígeno.
   b. Las células presentadoras de antígeno llevan una señal __________ a células __________.
   c. Sólo las células presentadoras de antígeno expresan moléculas MHC clase _____, en tanto que casi todas las células expresan moléculas MHC clase _____.
   d. El término científico que hace referencia a los glóbulos blancos en general es _______.
   e. La rama __________ del sistema inmunitario se llama así porque genera anticuerpos en respuesta a patógenos específicos. Es necesaria la exposición previa a un patógeno para que se desarrolle esta parte del sistema inmunitario.
   f. Los linfocitos T deben tener correceptores para poder unirse de manera eficiente a las moléculas MHC. El correceptor para el reconocimiento de moléculas MHC clase I es ____________, y el correceptor para el reconocimiento de las de clase II es ___________.
   g. La parte del antígeno unida por un anticuerpo se conoce como _________.

9. Se dice que la célula T es restringida clase I. ¿Qué significa esto?

10. Las inmunidades innata y adaptativa actúan en conjunto y en formas interdependientes para proteger al hospedador. Describa la colaboración de estas dos formas de inmunidad.

11. Proporcione ejemplos de consecuencias leves y graves de la disfunción inmunitaria. ¿Cuál es la causa más común de inmunodeficiencia en todo el mundo en la actualidad?

12. ¿Cuáles de los siguientes enunciados acerca del modo en que las células B y T reconocen antígenos son ciertos?

    a. Las células B sólo reconocen antígeno que es presentado por moléculas MHC clases I o II.
    b. Ambos tipos celulares pueden reconocer antígeno en solución (sin células).
    c. Ambos tipos celulares reconocen antígenos unidos a la matriz extracelular.
    d. Las células T sólo reconocen antígeno que es presentado por moléculas MHC clase I o clase II.

13. Indique si cada uno de los siguientes enunciados es cierto o falso. En este último caso explique por qué.

    a. Se requieren dosis de refuerzo porque la exposición repetida al antígeno crea una inmunorreacción más intensa.
    b. El gen para el receptor de célula T debe cortarse y empalmarse junto, borrando secciones completas, para que pueda transcribirse.
    c. El cuerpo humano experimenta la mayor invasión de agentes extraños a través de las membranas mucosas.
    d. La presencia de antígeno induce una mayor producción de anticuerpo en el sistema inmunitario.
    e. El antígeno es unido directamente por los linfocitos T.
    f. Los péptidos son colocados en la hendidura de unión de las moléculas MHC clase I en el citosol.
    g. Para que las células B maduren y se conviertan en células plasmáticas necesitan la “colaboración” de células T.

14. Relacione el tipo celular con el receptor presente en esa célula.

Tipo celular	Receptor
a. Célula presentadora de antígeno	1. $CD8^+$
b. Linfocito B	2. MHC
c. Célula T colaboradora	3. BCR
d. Célula T citotóxica	4. $CD4^+$

capítulo 2

Células y órganos del sistema inmunitario

Micrografía electrónica de barrido de un macrófago. [L. Nilsson, © Boehringer Ingelheim International GmbH.]

- Hematopoyesis
- Células del sistema inmunitario
- Órganos del sistema inmunitario
- Células y órganos linfoides: comparaciones evolutivas

La multitud de células, órganos y tejidos del sistema inmunitario se encuentran distribuidos por todo el cuerpo. Desde el punto de vista funcional pueden clasificarse en dos grupos principales. Los **órganos linfoides primarios** proporcionan microambientes apropiados para el desarrollo y la maduración de los linfocitos. Los **órganos linfoides secundarios** atrapan antígeno, por lo general procedente de tejidos próximos o espacios vasculares, y son sitios en que los linfocitos maduros pueden interactuar de manera eficaz con esos antígenos. Los vasos sanguíneos y los sistemas linfáticos conectan estos órganos y los unen en un conjunto funcional.

Transportados dentro de la sangre y la linfa e incluidos en los órganos linfoides se encuentran diversos glóbulos blancos, o **leucocitos**, que participan en la reacción inmunitaria. De estas células, sólo los linfocitos poseen los atributos de diversidad, especificidad, memoria y reconocimiento de lo propio y lo extraño, las características distintivas de una respuesta inmunitaria adaptativa. Otros leucocitos también tienen funciones importantes, algunos como células presentadoras de antígeno y otros como células efectoras en la eliminación de antígeno por fagocitosis o en la secreción de moléculas efectoras inmunitarias. Algunos leucocitos, en especial los linfocitos T, secretan varias moléculas proteínicas llamadas citocinas. Estas moléculas actúan como hormonas inmunorreguladoras y tienen funciones importantes en la regulación de las reacciones inmunitarias. En este capítulo se describen la maduración de las células sanguíneas, las propiedades de las diversas células del sistema inmunitario y las funciones de los órganos linfoides.

Hematopoyesis

Todas las células sanguíneas provienen de un tipo de célula llamada **célula madre hematopoyética** (**HSC**, del inglés *hematopoietic stem cell*). Las **células madre** pueden diferenciarse en otros tipos celulares; se renuevan por sí mismas —mantienen su población por división celular—. En el ser humano la **hematopoyesis**, o sea la formación y desarrollo de glóbulos rojos y blancos, se inicia en el saco vitelino embrionario durante las primeras semanas del desarrollo. Las células madre del saco vitelino se diferencian en células eritroides primitivas que contienen hemoglobina embrionaria. Hacia el tercer mes de la gestación las células madre hematopoyéticas migran del saco vitelino al hígado fetal y a continuación al bazo; estos dos órganos tienen funciones mayores en la hematopoyesis desde el tercero al séptimo meses del embarazo. Después de este período, la diferenciación de la HSC en la médula ósea se constituye en el principal factor de la hematopoyesis, y hacia el nacimiento ésta es escasa o nula en hígado y bazo. En la figura 2-1 se muestra la migración de la hematopoyesis durante el desarrollo desde una serie de sitios primitivos hasta la médula ósea.

Es notable que toda célula sanguínea madura funcionalmente especializada deriva de una HSC. Sin embargo, el estudio de las células madre hematopoyéticas es difícil por dos razones. Son escasas, normalmente menos de una HSC por 5×10^4 células en la médula ósea, y son difíciles de cultivar in vitro. Como resultado, sigue siendo incompleto el conocimiento que tenemos acerca del modo en que se regulan su proliferación y diferenciación. Debido a su capacidad de renovarse por sí mismas (autorrenovarse), las células madre hematopoyéticas se mantienen en concentraciones estables durante toda la vida adulta; empero, cuando aumenta la demanda de hematopoyesis, las HSC muestran una enorme capacidad de proliferación. Esto puede demostrarse en ratones cuyos sistemas hematopoyéticos se han destruido por completo con una dosis letal de rayos X (950 rads[1]). Estos ratones radiados mueren en el transcurso de

---

[1] Un rad representa la absorción por un blanco radiado de una cantidad de radiación correspondiente a 100 erg/g del blanco.

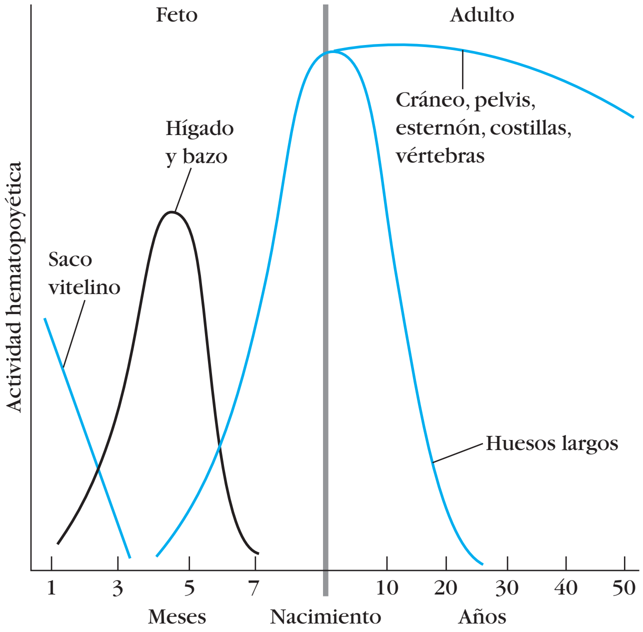


FIGURA 2-1 **Sitios de hematopoyesis en distintos momentos durante el desarrollo prenatal y posnatal del ser humano.**

10 días a menos que se les administren por infusión células de médula ósea normales de un ratón singénico (genéticamente idéntico). Aunque un ratón normal tiene 3×10^8 células de médula ósea, la infusión de sólo 10^4 a 10^5 de estas células (es decir, 0.01 a 0.1% de la cantidad normal) de un donador es suficiente para restablecer por completo el sistema hematopoyético, lo que demuestra la enorme capacidad de las HSC de autorrenovarse.

En un momento temprano de la hematopoyesis, una célula madre multipotente se diferencia a lo largo de una de dos vías y da lugar a una **célula progenitora linfoide** o una **célula progenitora mieloide** (fig. 2-2). Las **células progenitoras** han perdido la capacidad de renovarse por sí mismas y están comprometidas respecto de un linaje celular particular. Las células progenitoras linfoides dan lugar a células B, T y NK (asesinas naturales). Las células madre mieloides generan progenitoras de glóbulos rojos (eritrocitos), muchos de los diversos glóbulos blancos (neutrófilos, eosinófilos, basófilos, monocitos, células cebadas, células dendríticas) y células generadoras de plaquetas llamadas megacariocitos. En la médula ósea las células hematopoyéticas y sus descendientes crecen, se diferencian y maduran en un andamiaje parecido a red de **células del estroma** o **estromales**, entre las que se incluyen células adiposas (adipocitos), células endoteliales, fibroblastos y macrófagos. Las células estromales influyen en la diferenciación de células madre hematopoyéticas al proporcionar un **microambiente inductor hematopoyético** (**HIM**, del inglés *hematopoietic-inducing microenvironment*) que consiste en una matriz celular y factores que promueven el crecimiento y la diferenciación. Muchos de estos factores de crecimiento hematopoyéticos son agentes solubles que llegan a sus células blanco por difusión; otros son moléculas unidas a membrana en la superficie de células estromales que requieren contacto célula a célula entre las células que responden y las estromales.

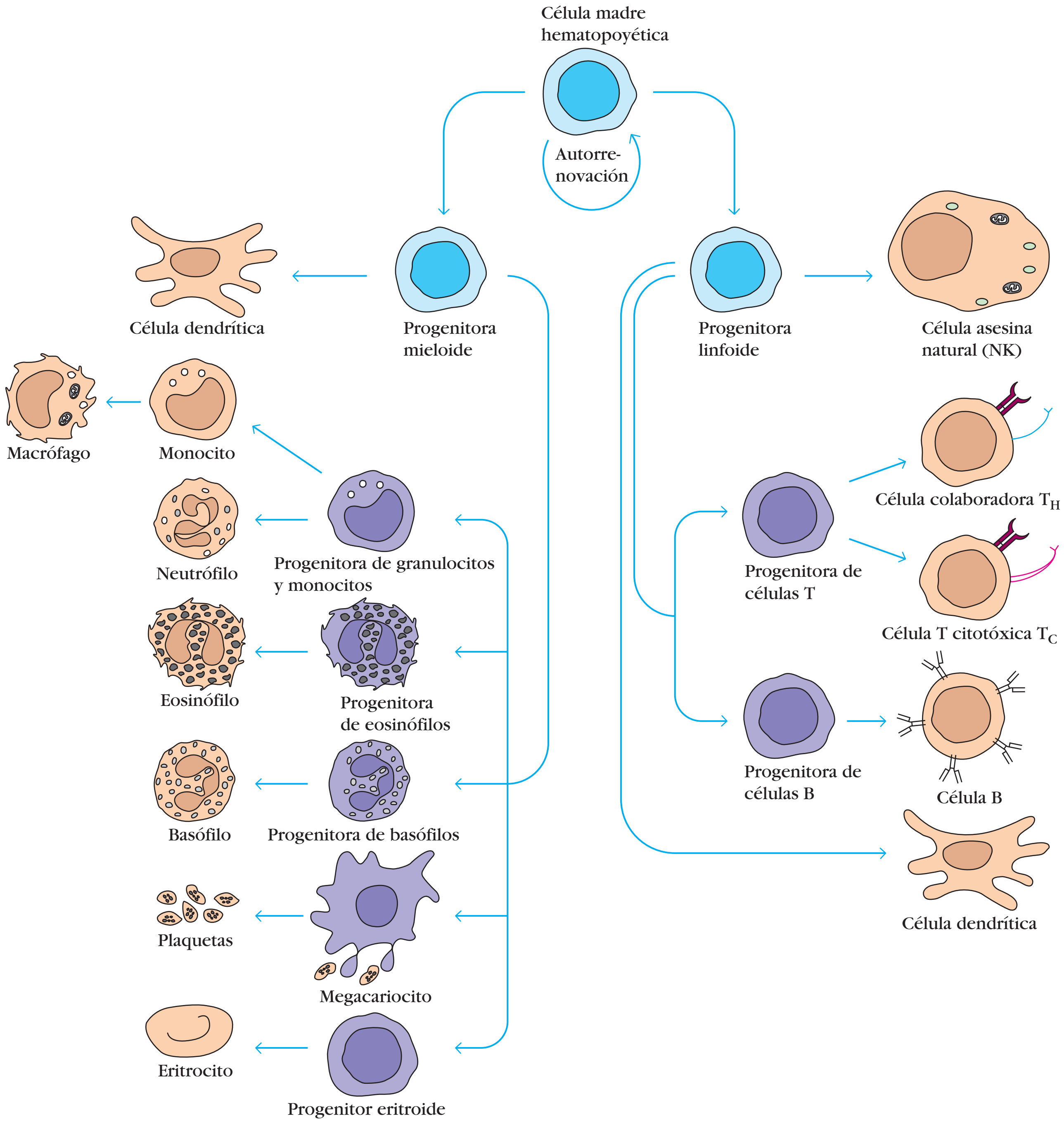
Durante la hematopoyesis, los eritrocitos y muchos tipos distintos de glóbulos blancos descienden de las pocas células madre hematopoyéticas en un proceso complicado que incluye muchos pasos los cuales atraviesan por una jerarquía de poblaciones precursoras. ¿Por qué surgió por evolución tal proceso complejo para generar células sanguíneas? En el curso de su vida, una persona producirá unas 10^{16} de tales células. Esto hace necesario una enorme cantidad de divisiones celulares. John Dick ha señalado que la división celular es propensa a errores y da la oportunidad para que el genoma sufra mutaciones, algunas de las cuales pueden producir cáncer. Él ha sugerido que para hacer menos probable este suceso potencialmente catastrófico, el sistema formador de sangre está organizado en una ingeniosa jerarquía en la cual la mayor parte de la proliferación ocurre dentro de precursores más diferenciados y no en la población misma de células madre hematopoyéticas. Estos precursores en diferenciación progresiva no se autorrenuevan, y las células sanguíneas maduras que forman son incapaces de dividirse o sólo lo hacen en circunstancias especiales. En consecuencia, la posibilidad de generar cáncer en las HSC y sus descendientes inmediatos se reduce, si bien no a cero.

La hematopoyesis se regula a nivel genético

El desarrollo de células madre hematopoyéticas pluripotentes en distintos tipos de células requiere la expresión de distintos grupos de genes determinantes y específicos de linaje en los tiempos apropiados y en el orden correcto. Las proteínas especificadas por estos genes son componentes críticos de las redes reguladoras que dirigen la diferenciación de la célula madre y su descendencia. Gran parte de lo que se conoce en la actualidad sobre la dependencia de la hematopoyesis respecto de un gen particular proviene de estudios en ratones en los que se desactiva o altera (en inglés *knock out*, “apagar” o “noquear”) un gen por alteración dirigida, lo que bloquea la producción de la proteína que dicho gen codifica (cap. 22). Si los ratones no producen glóbulos rojos o blancos específicos cuando se desactiva un gen, se concluye que es necesaria la proteína especificada por el gen para el desarrollo de dichas células. La tecnología de desactivación de genes (*knockout*) es uno de los instrumentos más potentes disponibles para determinar las funciones de genes particulares en una amplia gama de procesos y ha hecho contribuciones importantes a la identificación de muchos genes que regulan la hematopoyesis.

Aunque aún queda mucho por hacer, la desactivación dirigida y otros métodos han identificado varios factores de transcripción, que tienen actividades relevantes en la hematopoyesis (cuadro 2-1). Algunos de estos factores de transcripción afectan muchos diferentes linajes hematopoyéticos y otros sólo un linaje aislado, como la vía de desarrollo que conduce a linfocitos. Un factor de transcripción que afecta múltiples linajes es el GATA-2, un miembro de una familia de factores de transcripción que reconoce la secuencia tetranucleótido GATA, un motivo presente en genes blanco. Para el desarrollo de los linajes linfoide, eritroide y mieloide es esencial un **gen *GATA-2*** funcional, que especifica este factor de transcripción. Como cabría esperar, los animales en los que se altera este gen mueren

FIGURA 2-2 PARA VISUALIZACIÓN DE CONCEPTOS: Hematopoyesis


Célula madre hematopoyética
Autorrenovación
Célula dendrítica
Progenitora mieloide
Progenitora linfoide
Célula asesina natural (NK)
Macrófago
Monocito
Célula colaboradora T_H
Neutrófilo
Progenitora de granulocitos y monocitos
Progenitora de células T
Célula T citotóxica T_C
Eosinófilo
Progenitora de eosinófilos
Basófilo
Progenitora de basófilos
Progenitora de células B
Célula B
Plaquetas
Megacariocito
Célula dendrítica
Eritrocito
Progenitor eritroide

Las células madre hematopoyéticas, que se autorrenuevan, dan origen a progenitoras linfoides y mieloides. Todas las células linfoides descienden de células progenitoras linfoides, y todas las células de linaje mieloide provienen de progenitoras mieloides.

CUADRO 2-1 Algunos factores de transcripción esenciales para linajes hematopoyéticos

Factor	Linaje dependiente
GATA-1	Eritroide
GATA-2	Eritroide, mieloide, linfoide
PU.1	Eritroide (etapas de maduración), mieloide (etapas tardías), linfoide
Bmi-1	Todos los linajes hematopoyéticos
Ikaros	Linfoide
Oct-2	Linfoide B (diferenciación de células B en células plasmáticas)

durante el desarrollo embrionario. En contraste con el GATA-2, otro factor de transcripción, **Ikaros** (Ícaro), sólo es necesario para el desarrollo de células de linaje linfoide. Aunque los ratones alterados Ikaros no producen cifras considerables de células B, T y NK, su producción de eritrocitos, granulocitos y otras células del linaje mieloide no se modifica. Los ratones alterados Ikaros sobreviven al desarrollo embrionario, pero son muy deficientes en sentido inmunitario y mueren por infecciones a una edad temprana. Otro regulador de la transcripción más, Bmi-1, es un represor transcripcional que constituye un determinante clave de la capacidad de las HSC de autorrenovarse. Cuando se desactiva el gen que codifica Bmi-1 (el cual es altamente expresado en las HSC de ser humano y ratón), los ratones deficientes en Bmi-1 mueren en un plazo de dos meses después de nacer. La causa de la muerte es la incapacidad final de la médula ósea de generar glóbulos rojos y blancos. Esta incapacidad de la médula ósea se rastreó hasta la falta de autorrenovación de las HSC.

En la hemostasia hematopoyética intervienen muchos factores

La hematopoyesis es un proceso de estado estable en el cual se producen células sanguíneas maduras al mismo ritmo al que se pierden. (La principal causa de pérdida de células sanguíneas es el envejecimiento.) El eritrocito promedio tiene un lapso de vida de 120 días antes de que lo fagociten y digieran los macrófagos en el bazo. Los diversos leucocitos tienen períodos de vida que varían de un día, para los neutrófilos, hasta 20 a 30 años en algunos linfocitos T. Con el fin de conservar valores en estado estable, el ser humano promedio debe producir un estimado de 3.7×10^{11} glóbulos blancos por día. Este sistema masivo es regulado por mecanismos complejos en que participan todos los tipos celulares individuales, y en última instancia el número de células en cualquier linaje hematopoyético se establece por un equilibrio entre el número de células que se eliminan por muerte celular y la cifra que surge de la división y diferenciación. Cualquier factor regulador o una combinación de ellos puede afectar las tasas de reproducción y diferenciación de las células. Estos factores también pueden determinar si se induce la muerte de una célula hematopoyética.

La muerte celular programada es un mecanismo homeostático esencial

La **muerte celular programada**, un proceso inducido y ordenado en el cual la célula participa de modo activo para consumar su muerte, es un factor crítico en la regulación homeostática de muchos tipos de poblaciones celulares, incluidos los del sistema hematopoyético.

Las células que experimentan la muerte celular programada a menudo exhiben cambios morfológicos precisos, que se denominan en conjunto **apoptosis** (figs. 2-3, 2-4). Estos cambios incluyen decremento notable del volumen celular, modificación del citoesqueleto —cuyo efecto se manifiesta en la vesiculación de la membrana—, condensación de la cromatina y degradación del DNA en fragmentos. Después de estos cambios morfológicos, una célula apoptósica libera diminutos cuerpos apoptósicos unidos a membrana que contienen organelos intactos. Los macrófagos fagocitan cuerpos apoptósicos y células en las etapas avanzadas de apoptosis. Ello asegura que no se libere hacia el tejido circundante su contenido intracelular, incluidas las enzimas proteolíticas y otras líticas, proteínas catiónicas y moléculas oxidantes. En consecuencia, la apoptosis no induce una respuesta inflamatoria local. La apoptosis difiere notablemente de la **necrosis**, los cambios relacionados con la muerte celular a causa de una lesión. En la necrosis, la célula dañada se hincha y estalla; entonces libera su contenido y tal vez desencadena una reacción inflamatoria perjudicial.

Cada uno de los leucocitos que se producen por hematopoyesis tiene un lapso de vida característico y a continuación perece por muerte celular programada. Por ejemplo, en el ser humano adulto hay alrededor de 5×10^{10} neutrófilos en la circulación. Estas células tienen un período de vida de sólo unos cuantos días antes de que se inicie la muerte celular programada. La producción constante de neutrófilos mantiene una cifra estable de estas células. La muerte celular programada también tiene un sitio en la conservación de cifras apropiadas de células hematopoyéticas progenitoras de eritrocitos y diversos tipos de leucocitos. Además de la hematopoyesis, la apoptosis es importante en procesos inmunitarios como la tolerancia y destrucción de células blanco por células T citotóxicas o células asesinas naturales. Han surgido detalles sobre los mecanismos que sustentan la apoptosis; se describen con amplitud en los capítulos 10 y 14.

La apoptosis en leucocitos y otros tipos de células se acompaña de la expresión de varios genes (cuadro 2-2). Algunas de las proteínas especificadas por estos genes inducen apoptosis, otras son críticas durante esta última y algunas más la inhiben. Por ejemplo, puede inducirse apoptosis en timocitos mediante radiación, pero sólo si se encuentra presente la proteína p53; muchas muertes celulares son consecuencia de señales de Fas, una molécula que se encuentra en la superficie de muchas células, y las proteasas que se conocen como caspasas participan en una cascada de reacciones que conduce a la apoptosis. Por otra parte, los miembros de la familia de genes *bcl-2* (linfoma 2 de células B), *bcl-2* y *bcl-*X_L, codifican productos proteínicos que inhiben la apoptosis. Como hecho interesante, el primer miembro de esta familia de genes, *bcl-2*, se encontró en estudios relacionados no con la muerte celular sino con la proliferación descontrolada de células B en un tipo de cáncer que se conoce como linfoma de células B. En este caso, el gen *bcl-2* se hallaba en el punto

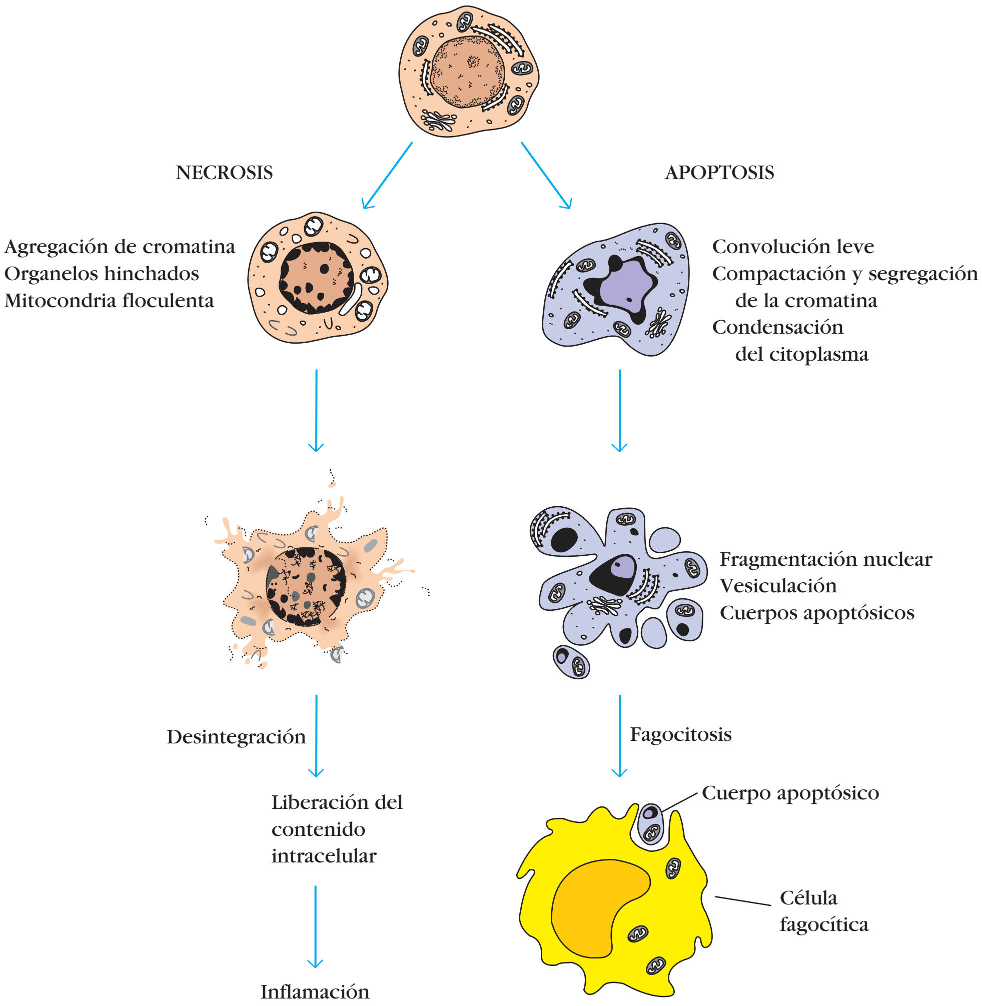

NECROSIS
APOPTOSIS
Agregación de cromatina
Organelos hinchados
Mitocondria floculenta
Convolución leve
Compactación y segregación de la cromatina
Condensación del citoplasma
Fragmentación nuclear
Vesiculación
Cuerpos apoptósicos
Desintegración
Fagocitosis
Liberación del contenido intracelular
Cuerpo apoptósico
Célula fagocítica
Inflamación

FIGURA 2-3 Comparación de los cambios morfológicos que ocurren en la apoptosis y la necrosis. La apoptosis, que tiene como efecto la muerte celular programada de células hematopoyéticas, no induce una respuesta inflamatoria local. En contraste, la necrosis, el proceso que conduce a la muerte de células lesionadas, provoca la liberación del contenido celular, que puede activar una reacción inflamatoria local.

de rotura de una transposición cromosómica en un linfoma humano de células B. La transposición llevó el gen *bcl-2* hacia el locus de la cadena pesada de inmunoglobulina y dio por resultado la activación transcripcional del gen *bcl-2* y la producción excesiva de la proteína que Bcl-2 codifica por las células de linfoma. Se piensa que las concentraciones altas resultantes de Bcl-2 ayudan a transformar las células linfoides en células cancerosas de linfoma por inhibición de las señales que en condiciones normales inducirían la muerte celular apoptósica.

Se encontró que las concentraciones de Bcl-2 tienen un papel importante en la regulación del período de vida normal de varios linajes de células hematopoyéticas, incluidos los linfocitos. Un adulto normal tiene alrededor de cinco litros de sangre con unos 2 000 linfocitos/mm^3, para un total aproximado de 10^{11} linfocitos circulantes. Durante una infección aguda aumenta la cifra de linfocitos cuatro veces o más y se obtiene un recuento total de linfocitos de 40×10^{11}. Debido a que el sistema inmunitario no puede sostener un incremento tan masivo de las cifras de células por un período prolongado, el sistema requiere un medio para eliminar los linfocitos activados innecesarios una vez que pasa la amenaza antigénica. Se ha reconocido que los linfocitos activados expresan valores más bajos de Bcl-2 y, por consiguiente, son más susceptibles a la inducción de muerte apoptósica que los linfocitos vírgenes o las células de memoria.

CUADRO 2-2 Genes que regulan la apoptosis

Gen	Función	Función en la apoptosis
bcl-2	Previene la apoptosis	Inhibe
bax	Se opone a *bcl-2*	Promueve
bcl-X$_L$ (*bcl-Largo*)	Previene la apoptosis	Inhibe
bcl-X$_S$ (*bcl-Corto*)	Se opone a *bcl-X$_L$*	Promueve
caspasa (varios diferentes)	Proteasa	Promueve
Fas	Induce la apoptosis	Inicia

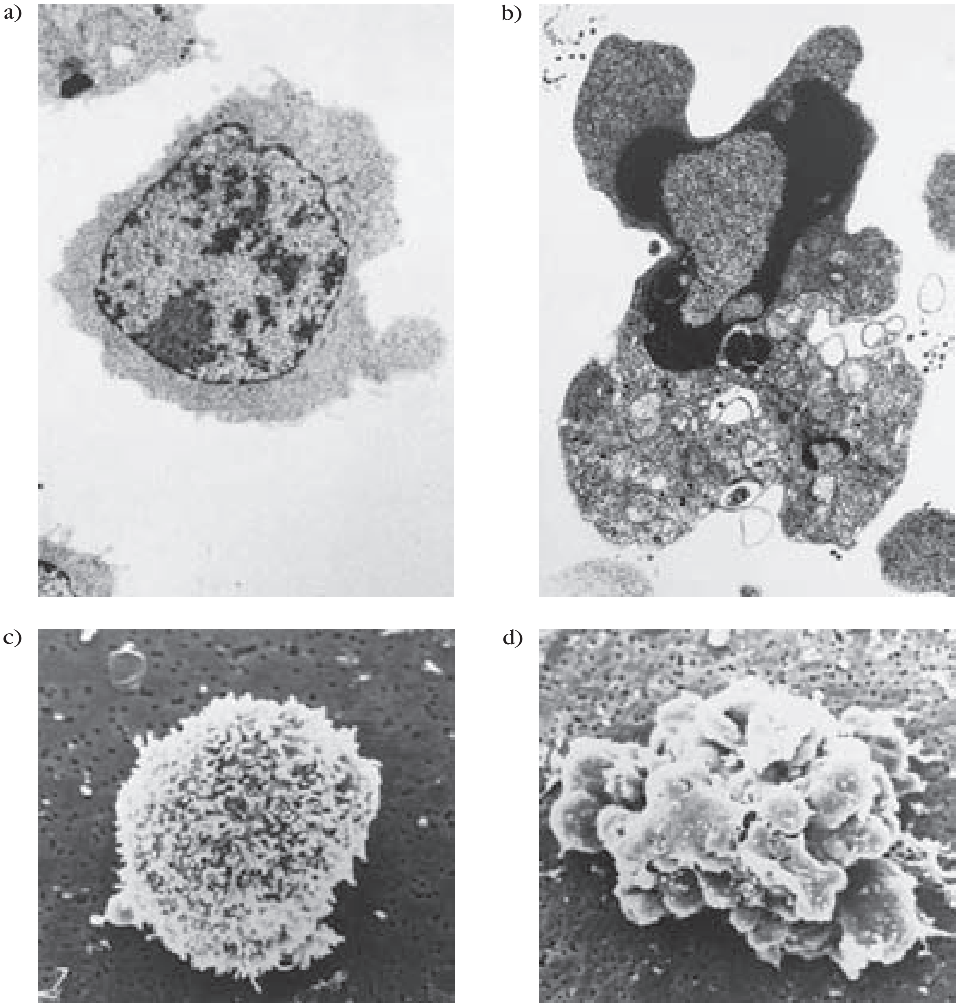


FIGURA 2-4 Apoptosis. Micrografías ópticas de: a) timocitos normales (células T en desarrollo en el timo) y b) timocitos apoptósicos. Micrografías electrónicas de barrido de timocitos c) normales y d) apoptósicos. *[Tomada de B. A. Osborne y S. Smith, 1997,* Journal of NIH Research ***9****:35; cortesía de B. A. Osborne, University of Massachusetts at Amherst.]*

Sin embargo, si no dejan de activarse los linfocitos por el antígeno, la señal que reciben durante la activación bloquea la señal apoptósica. A medida que remiten las concentraciones de antígeno, se reduce asimismo la activación del bloqueo y los linfocitos comienzan a morir por apoptosis.

Las células madre hematopoyéticas pueden enriquecerse

Irv Weissman y colaboradores desarrollaron un método novedoso para enriquecer la concentración de células madre hematopoyéticas del ratón, que en condiciones normales constituyen menos de 0.05% de todas las células de la médula ósea en ratones. Su método se basó en el uso de anticuerpos específicos para moléculas que se conocen como **antígenos de diferenciación**, que sólo tipos particulares de células expresan. Expusieron muestras de médula ósea a anticuerpos marcados con un compuesto fluorescente y específicos para los antígenos de diferenciación expresados en la superficie de glóbulos rojos y blancos maduros pero no de células madre (fig. 2-5). A continuación eliminaron las células marcadas mediante citometría de flujo con un seleccionador celular activado por fluorescencia (cap. 6). Después de cada selección se valoraron las células restantes a fin de determinar la cifra necesaria para restablecer la hematopoyesis en un ratón radiado con niveles letales de rayos X. A medida que se tornaron relativamente más numerosas las células madre pluripotentes en la población restante, se requirieron cada vez menos células para restablecer la hematopoyesis en este sistema. Al eliminar las células hematopoyéticas seleccionando la presencia de antígenos de diferenciación conocidos fue posible un enriquecimiento de 50 a 200 veces de células madre pluripotentes. A fin de enriquecer aún más las células madre pluripotentes, se incubaron las células restantes con diversos anticuerpos formados contra células que tal vez se encontraban en las etapas tempranas de la hematopoyesis. Uno de estos anticuerpos reconoció un antígeno de diferenciación llamado antígeno de célula madre 1 (Sca-1). El tratamiento con este anticuerpo ayudó a capturar células madre indiferenciadas y proporcionó una preparación tan rica en células madre pluripotentes que una alícuota que sólo contenía 30 a 100 células restableció de manera sistemática la hematopoyesis en un ratón radiado con cantidades letales de rayos X, en tanto que se requerían más de 10^4 de células de médula ósea no enriquecidas para la restauración. Mediante una variación de este método, H. Nakauchi y sus colaboradores diseñaron procedimientos tan eficaces que en uno de cada cinco

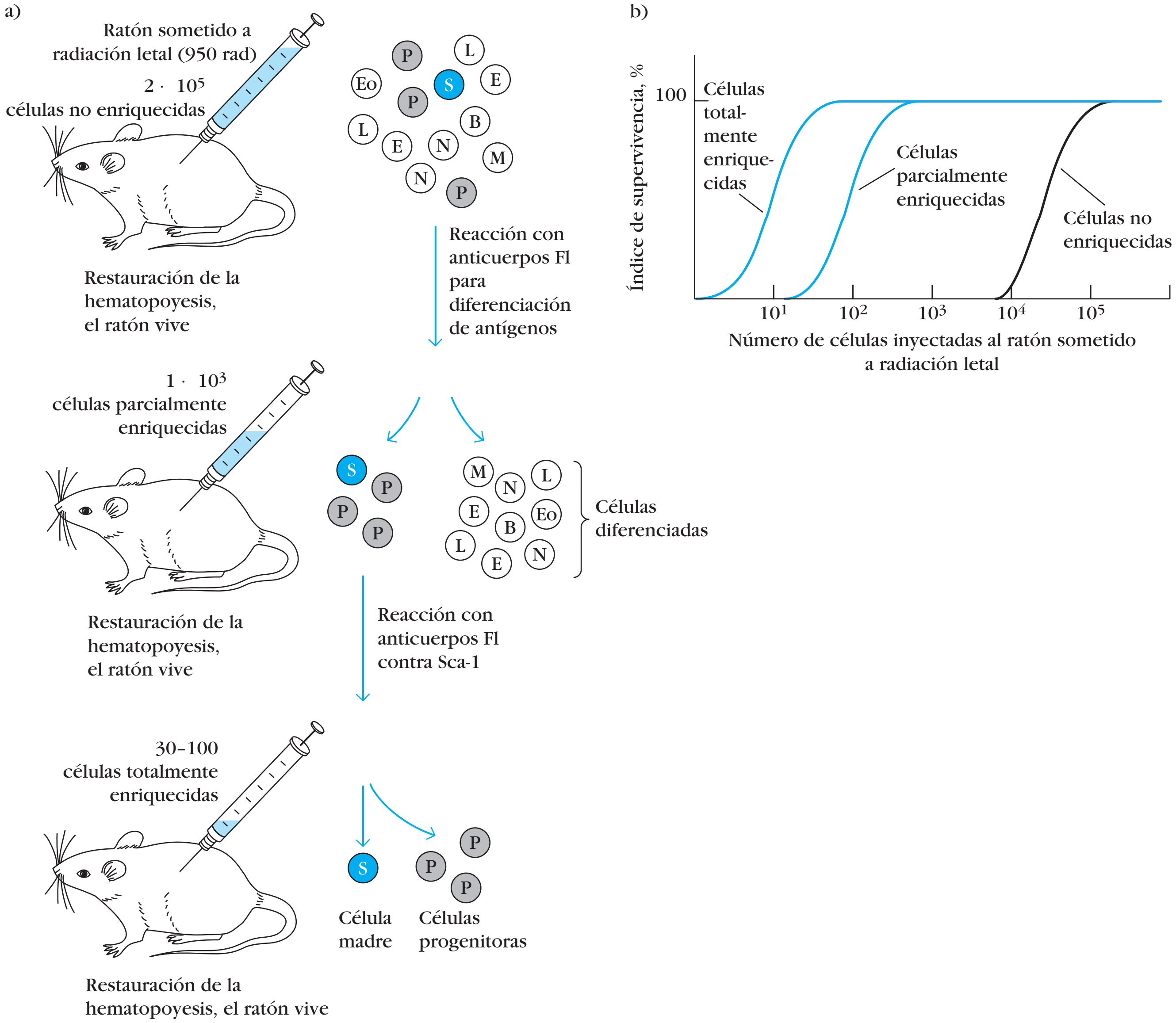

a)
Ratón sometido a radiación letal (950 rad)
$2 \cdot 10^5$ células no enriquecidas
P
L
Eo
S
E
P
B
L
E
N
M
N
P
Restauración de la hematopoyesis, el ratón vive
Reacción con anticuerpos Fl para diferenciación de antígenos
$1 \cdot 10^3$ células parcialmente enriquecidas
S
P
P
P
M
N
L
E
Eo
B
L
E
N
Células diferenciadas
Restauración de la hematopoyesis, el ratón vive
Reacción con anticuerpos Fl contra Sca-1
30–100 células totalmente enriquecidas
S
P
P
P
Célula madre
Células progenitoras
Restauración de la hematopoyesis, el ratón vive
b)
Índice de supervivencia, %
100
Células totalmente enriquecidas
Células parcialmente enriquecidas
Células no enriquecidas
10^1
10^2
10^3
10^4
10^5
Número de células inyectadas al ratón sometido a radiación letal

FIGURA 2-5 Enriquecimiento de células madre pluripotentes de médula ósea. a) Se extraen células hematopoyéticas diferenciadas (blanco) mediante el tratamiento con anticuerpos marcados con fluorescencia (anticuerpos Fl) específicos para moléculas de membrana expresadas en linajes diferenciados, pero que no existen en células madre indiferenciadas (S) y células progenitoras (P). El tratamiento de la preparación resultante, enriquecida de manera parcial con anticuerpo específico para Sca-1, un antígeno de diferenciación temprano, eliminó la mayor parte de las células progenitoras. M, monocito; B, basófilo; N, neutrófilo; Eo, eosinófilo; L, linfocito; E, eritrocito. b) El enriquecimiento de las preparaciones de células madre se mide por su capacidad de restablecer la hematopoyesis en ratones radiados con dosis letales. Sólo sobreviven los animales en los que hay hematopoyesis. El enriquecimiento progresivo de células madre está indicado por la disminución del número de células inyectadas necesario para restablecer la hematopoyesis. Por este procedimiento es posible un enriquecimiento total de unas 1 000 veces.

ratones sometidos a radiación letal, una célula hematopoyética aislada puede restablecer tanto los linajes mieloides como los linfoides (cuadro 2-3).

Se encontró que el CD34, un marcador que existe en alrededor de 1% de las células hematopoyéticas, si bien no es exclusivo en realidad de las células madre, se encuentra en una población pequeña de células que incluye células madre. La administración de poblaciones de células humanas enriquecidas de manera adecuada para células CD34$^+$ (el "+" indica que se encuentra el factor en la membrana celular) puede reconstituir la totalidad del sistema hematopoyético en un paciente (véase el enfoque clínico más adelante).

Un instrumento importante en estudios para identificar y caracterizar la célula madre hematopoyética humana es el uso de ratones con **inmunodeficiencia combinada grave** (**SCID**, del inglés *severe combined immunodeficiency*) como sistemas de valoración in vivo para la presencia y función de las células madre hematopoyéticas (HSC). Los ratones con SCID carecen de linfocitos B y T y son incapaces de montar reacciones inmunitarias adaptativas, como las que actúan en el rechazo normal de célu-

CUADRO 2-3 Reconstitución de la hematopoyesis por células madre hematopoyéticas (HSC)

Número de HSC enriquecidas	Número de ratones reconstituidos (%)
1	9 de 41 (21.9)
2	5 de 21 (23.8)
5	9 de 17 (52.9)
10	10 de 11 (90.9)
20	4 de 4 (100)

FUENTE: Adaptado de M. Osawa et al., 1996, *Science* **273**:242.

CUADRO 2-4 Cifras normales de células sanguíneas en adultos

Tipo de célula	Células/mm^3	Leucocitos totales (%)
Glóbulos rojos	5.0×10^6	
Plaquetas	2.5×10^5	
Leucocitos	7.3×10^3	
Neutrófilos	$3.7–5.1 \times 10^3$	50–70
Linfocitos	$1.5–3.0 \times 10^3$	20–40
Monocitos	$1–4.4 \times 10^2$	1–6
Eosinófilos	$1–2.2 \times 10^2$	1–3
Basófilos	$< 1.3 \times 10^2$	< 1

las, tejidos y órganos extraños. En consecuencia, estos animales no rechazan poblaciones de células humanas trasplantadas que contienen HSC o tejidos como timo y médula ósea. Los ratones inmunodeficientes han sido hospedadores sustitutos o alternativos para la investigación in vivo de células madre humanas. Los ratones con SCID en los que se implantan fragmentos de timo y médula ósea humanos mantienen la diferenciación de células madre hematopoyéticas humanas en células hematopoyéticas maduras. Este sistema ha permitido estudiar subpoblaciones de células $CD34^+$ y el efecto de los factores de crecimiento humanos en la diferenciación de diversos linajes hematopoyéticos.

Células del sistema inmunitario

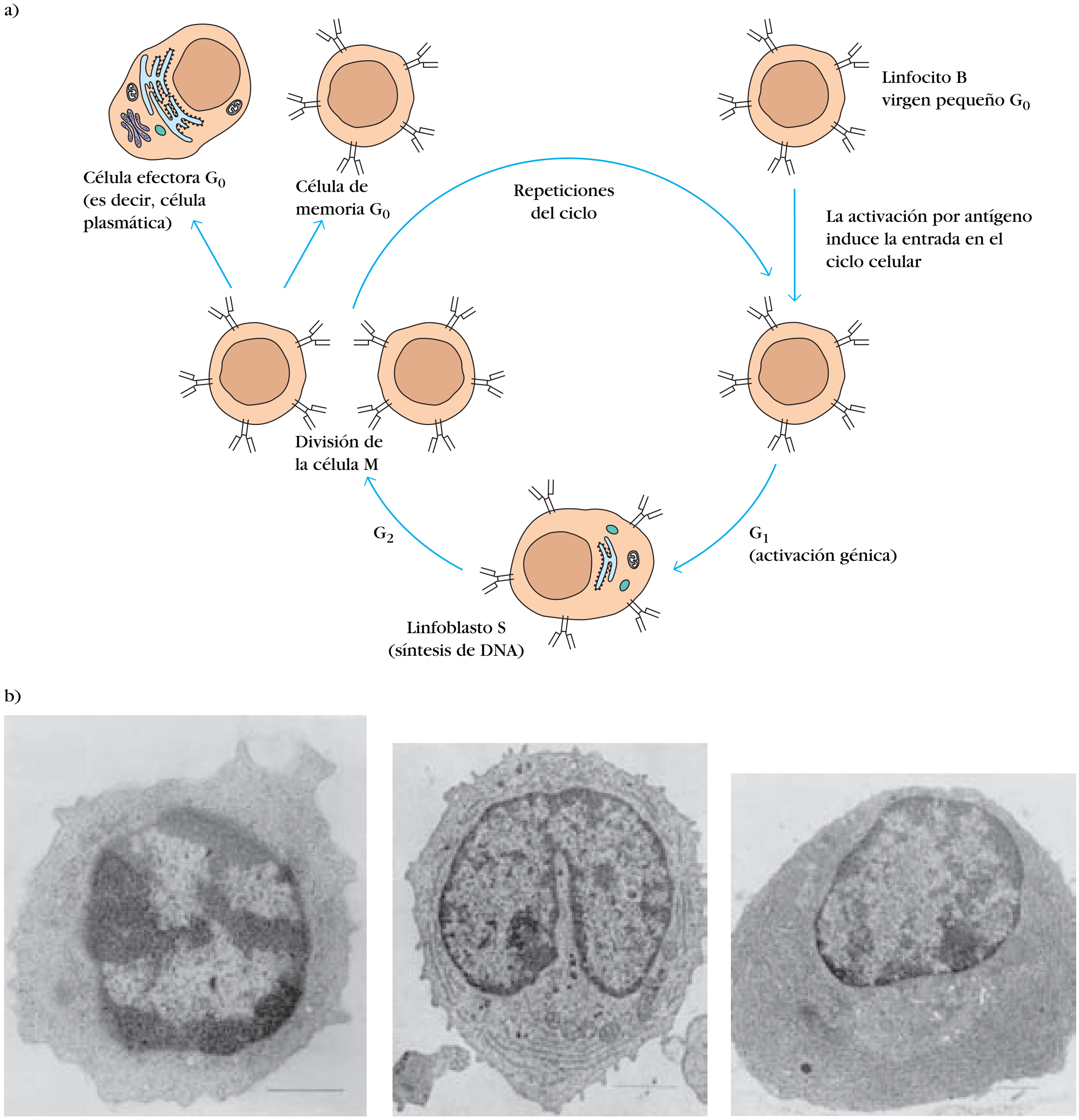
Los linfocitos que portan receptores de antígeno son las células centrales de la inmunidad adaptativa y son las responsables de sus propiedades características de diversidad, especificidad y memoria. Si bien los linfocitos son importantes, otros tipos de glóbulos blancos también tienen funciones esenciales en inmunidad adaptativa, presentación de antígenos, secreción de citocinas y fagocitosis y destrucción de microorganismos. Además, como se verá en el próximo capítulo, el sistema inmunitario innato, que comparte muchas células con el adaptativo, realiza un indispensable papel de colaboración para inducir respuestas adaptativas.

Células linfoides

Los linfocitos constituyen 20 a 40% de los glóbulos blancos del cuerpo y 99% de las células de la linfa (cuadro 2-4). Hay alrededor de un billón (10^{12}) de linfocitos en el cuerpo humano, que circulan continuamente en la sangre y la linfa y son capaces de migrar hacia espacios tisulares y órganos linfoides, por lo que constituyen un puente entre distintas partes del sistema inmunitario.

En términos generales, los linfocitos pueden subdividirse en tres poblaciones principales —células B, células T y células asesinas naturales— con base en la función y los componentes de la membrana celular. Los linfocitos B y T, fundamentales para la inmunidad adaptativa, portan cada uno su familia característica de receptores de antígeno. Las **células asesinas naturales (células NK)** son linfocitos granulares (así llamados por su aspecto granuloso al microscopio) grandes que forman parte del sistema inmunitario innato y no expresan el grupo de marcadores de superficie característico de las células B o T. Los linfocitos B y T que no han interactuado con antígeno (a los que se denomina **vírgenes**, inocentes o no cebados) son células pequeñas móviles no fagocíticas que no es posible diferenciar entre sí a nivel morfológico. En su estado inactivo, permanecen en la fase G_0 del ciclo celular. Dichas células, que se llaman asimismo linfocitos pequeños, sólo tienen alrededor de 6 μm de diámetro; su citoplasma forma anillos apenas discernibles alrededor del núcleo. Los linfocitos pequeños tienen cromatina empacada a gran densidad, pocas mitocondrias y retículo endoplásmico y aparato de Golgi poco desarrollados. En general se piensa que el linfocito virgen posee un período de vida corto. En condiciones apropiadas, la interacción de los linfocitos pequeños con antígeno induce a estas células a avanzar en el ciclo celular de G_0 a G_1 y más adelante a S, G_2 y M (fig. 2-6a). A medida que experimentan el ciclo celular, los linfocitos crecen hasta convertirse en células de 15 μm de diámetro llamadas **linfoblastos**; éstos muestran una relación citoplasma:núcleo más alta y mayor complejidad de organelos que los linfocitos pequeños (fig. 2-6b).

Los linfoblastos proliferan y al final se diferencian en **células efectoras** o bien en **células de memoria**. Las primeras funcionan de varias formas para eliminar antígeno. Estas células tienen lapsos de vida cortos que suelen variar de unos cuantos días a unos pocos meses. Las **células plasmáticas** —las células efectoras que secretan anticuerpo del linaje de células B— evidencian un citoplasma típico que incluye retículo endoplásmico abundante (para apoyar su alto índice de síntesis de proteínas) dispuesto en capas concéntricas y asimismo muchas vesículas de Golgi (fig. 2-6b). Las células efectoras del linaje de células T incluyen la célula T colaboradora (célula T_H) que secreta citocinas y células maduras activadas por antígeno del linaje de la célula T citotóxica (célula T_C) conocidas como CTL (linfocitos T citotóxicos). Algunos miembros de la progenie de linfoblastos B y T se diferencian en células de memoria. La persistencia de esta población de células es la que tiene a su cargo la inmunidad durante toda la vida contra muchos agentes patógenos. Las células de memoria parecen linfocitos pequeños pero pueden distinguirse de las células vírgenes por la presencia o ausencia de ciertas moléculas en su membrana celular.


a)
Célula efectora G$_0$ (es decir, célula plasmática)
Célula de memoria G$_0$
Repeticiones del ciclo
Linfocito B virgen pequeño G$_0$
La activación por antígeno induce la entrada en el ciclo celular
División de la célula M
G$_2$
G$_1$ (activación génica)
Linfoblasto S (síntesis de DNA)
b)

Linfocito pequeño (T o B)
6 μm de diámetro

Blastocito (T o B)
15 μm de diámetro

Célula plasmática (B)
15 μm de diámetro

FIGURA 2-6 Destino de linfocitos pequeños activados por antígeno. a) Un linfocito pequeño en reposo (virgen, inocente o no cebado) reside en la fase G$_0$ del ciclo celular. En esta etapa, los linfocitos B y T no pueden diferenciarse de manera morfológica. Después de la activación con antígeno, entra una célula B o T en el ciclo celular y crece hasta un linfoblasto, que lleva a cabo varios ciclos de división celular y, al final, genera células efectoras y células de memoria. Se muestran células del linaje de células B. b) Micrografía electrónica de un linfocito pequeño (*izquierda*) que posee cromatina condensada indicativa de una célula en reposo, un linfoblasto crecido (*centro*) en el que se observa cromatina descondensada y una célula plasmática (*derecha*), que contiene retículo endoplásmico abundante, dispuesto en círculos concéntricos y un núcleo prominente que se desplazó hacia una posición excéntrica característica. Las tres células se muestran con amplificaciones diferentes. *[Micrografías cortesía de J. R. Goodman, Dept. of Pediatrics, University of California at San Francisco.]*

ENFOQUE CLÍNICO

Células madre: usos clínicos y potencial

El trasplante de células madre parece muy prometedor para regenerar tejido enfermo, dañado o defectuoso. Las células madre hematopoyéticas ya se utilizan para restaurar células hematopoyéticas, y más adelante se describe su uso en clínica. Sin embargo, los rápidos adelantos en la investigación de células madre plantearon la posibilidad de usar también en poco tiempo otros tipos de células madre para reemplazar otras células y tejidos. Dos propiedades de las células madre sustentan su utilidad y expectativas. Tienen la capacidad de originar células más diferenciadas y se renuevan por sí mismas, ya que cada división de la célula madre crea cuando menos otra célula madre. Si estas células se clasifican según su descendencia y potencial de desarrollo, es posible reconocer cuatro niveles de células madre: totipotente, pluripotente, multipotente y unipotente.

Las *células totipotentes* pueden dar origen a un organismo completo. Un huevo fecundado, el cigoto, es una célula totipotente. En el ser humano, las divisiones iniciales del cigoto y sus descendientes producen células que también son totipotentes. De hecho, los gemelos idénticos, cada uno con su placenta, se desarrollan cuando células totipotentes se separan y evolucionan a fetos genéticos idénticos. Las *células madre pluripotentes* surgen de células totipotentes y pueden originar la mayor parte de los tipos de células necesarios para el desarrollo fetal. Por ejemplo, las células madre pluripotentes humanas pueden generar todas las células del cuerpo pero no una placenta. La diferenciación adicional de células madre pluripotentes conduce a la formación de células madre multipotentes y unipotentes. Las *células multipotentes* sólo pueden crear un número limitado de tipos celulares, y las *células unipotentes* sólo células de su mismo tipo. Las células pluripotentes, llamadas *células madre embrionarias* o *células ES* (del inglés *embryonic stem cells*), pueden aislarse de embriones tempranos; durante muchos años se han desarrollado en laboratorios células ES de ratón como líneas celulares. Como hecho notable, estas células ES pueden inducirse a generar muchos tipos diferentes de células. Se ha demostrado que las células ES de ratón dan origen a células musculares, nerviosas, hepáticas, pancreáticas y, por supuesto, hematopoyéticas.

Adelantos recientes hicieron posible desarrollar líneas de células pluripotentes humanas. Éste es un avance de gran importancia para comprender el desarrollo humano y tiene un gran potencial terapéutico. Estudios in vitro de los factores que determinan o influyen el desarrollo de células madre pluripotentes humanas a lo largo de una vía de desarrollo en oposición a otra están proporcionando importantes indicios sobre el modo en que las células se diferencian en tipos especializados. Esta investigación es motivada en parte por el gran potencial del uso de células madre pluripotentes para generar células y tejidos que podrían reemplazar otros enfermos o dañados. El éxito en este esfuerzo sería un adelanto de importancia, porque en la actualidad la medicina de trasplantes depende por completo de órganos y tejidos donados, pero la demanda excede con mucho el número de donaciones y sigue aumentando. El éxito de la obtención de cantidades prácticas de células, tejidos y órganos a partir de células madre pluripotentes proporcionaría el reemplazo de piel para pacientes quemados, células de músculo cardíaco para quienes padecen una enfermedad cardíaca crónica, células de islotes pancreáticos para los enfermos con diabetes, y neuronas para usarse en las enfermedades de Parkinson o Alzheimer.

El trasplante de células madre hematopoyéticas (HSC) es una terapéutica relevante para personas en las que es necesario reemplazar los sistemas hematopoyéticos. Tiene tres aplicaciones principales:

- Proporcionar un sistema inmunitario funcional a individuos con una inmunodeficiencia determinada de forma genética, como la inmunodeficiencia combinada grave (SCID).
- Reemplazar el sistema hematopoyético defectuoso por uno funcional para curar a algunos pacientes que tienen un trastorno genético no maligno de la hematopoyesis que amenaza la vida, como anemia de células falciformes o talasemia.
- Restaurar el sistema hematopoyético de sujetos con cáncer después del tratamiento con dosis de quimioterapia y radiación tan altas que destruyen el sistema. Estos regímenes posológicos elevados pueden ser mucho más eficaces para destruir células tumorales que los tratamientos en los que se utilizan dosis más convencionales de agentes citotóxicos. El trasplante de células madre permite la recuperación de esta drástica terapia. Asimismo, ciertos cánceres, como algunos casos de leucemia mieloide aguda, sólo pueden curarse si se destruye la fuente de las células leucémicas, el propio sistema hematopoyético del paciente.

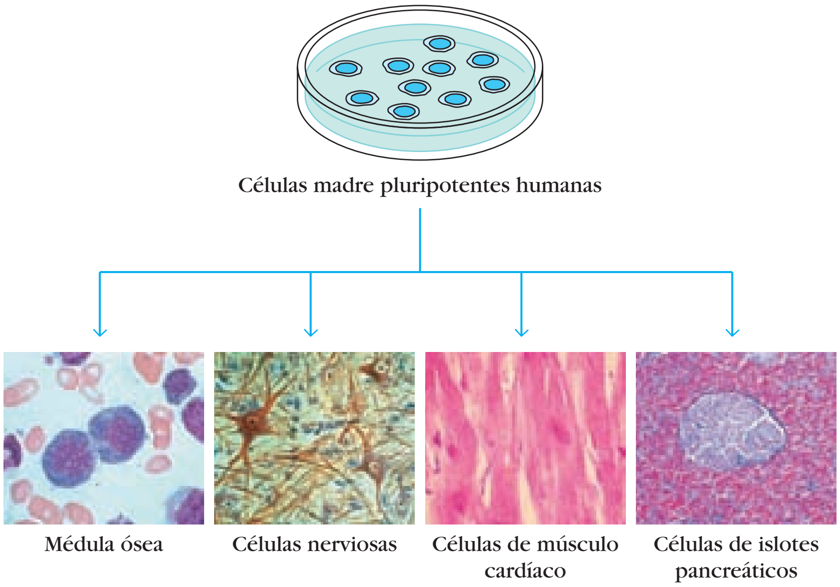
Las células madre hematopoyéticas tienen extraordinaria capacidad de regeneración. Experimentos en ratones indican que una cantidad tan pequeña como una sola HSC puede restablecer por completo la población eritroide y el sistema inmunitario. En seres humanos, es necesario administrar tan poco como 10% del volumen total de médula ósea del donador para proporcionar suficientes HSC y restablecer por completo el sistema hematopoyético. Una vez que se inyectan en una vena, las HSC pasan a la circulación y encuentran su camino hacia la médula ósea, donde comienzan el proceso de injerto. No es necesario que un cirujano inyecte de forma directa las células en huesos. Además, las HSC pueden preservarse por congelación. Esto significa que es posible crear “bancos” de células hematopoyéticas. Después de colectarse, las células se tratan con un criopreservador, se congelan y se almacenan para su uso posterior. Cuando se requieren, se descongela la preparación congelada y se administra al paciente, en el que reconstituye el sistema hematopoyético. Esta tecnología de congelación de células hace posible incluso que las personas guarden sus células hematopoyéticas propias para que les sean trasplantadas a ellas mismas en una época posterior. En la actualidad, este procedimiento se utiliza para permitir que los sujetos con cáncer donen células antes de someterse a quimioterapia y tratamientos de radiación y se reconstituya más adelante su sistema hematopoyético con sus células madre propias. Las células madre hematopoyéticas se encuentran en poblaciones celulares que exhiben antígenos de superficie característicos. Como se expone en el texto, uno de estos antígenos es el CD34, que sólo existe en un porcentaje pequeño (~1%) de las células en la médula ósea adulta. Se emplea un anticuerpo específico para CD34 a fin de seleccionar las células que muestran este antígeno y producir una población enriquecida de células madre CD34$^+$. Se han aplicado varias versiones de este procedimiento de selección con objeto de enriquecer poblaciones de células madre de diversas fuentes.

El trasplante de poblaciones de células madre puede ser **autólogo** (el receptor es también el donador), **singénico** (el donador es idéntico desde el punto de vista genético, es decir, un gemelo idéntico del receptor), o **alogénico** (el donador y el receptor no son idénticos a nivel genético). En cualquier procedimiento de trasplante, las diferencias genéticas entre el donador y el receptor pueden dar lugar a reacciones de rechazo de base inmunitaria. Aparte del rechazo del hospedador del tejido trasplantado (hospedador contra injerto), los linfocitos en el injerto pueden atacar a los tejidos del receptor y causar en consecuencia una **enfermedad de injerto contra hospedador** (**GVHD**, del inglés *graft-versus-host disease*), que pone en peligro la vida. Con el fin de suprimir las reacciones de rechazo, es necesario suministrar fármacos inmunosupresores potentes. Por desgracia, estos medicamentos tienen efectos secundarios graves, y la inmunosupresión eleva el riesgo de infección del paciente y el crecimiento adicional de tumores. Por lo tanto, el trasplante de HSC se acompaña de menos complicaciones cuando existe identidad genética entre donador y receptor.

En una época, el trasplante de médula ósea fue el único medio para restaurar el sistema hematopoyético. No obstante, el elemento esencial del trasplante de médula ósea es en realidad el trasplante de células madre. Por fortuna, es posible obtener cantidades significativas de células madre de otros tejidos, como sangre periférica y sangre del cordón umbilical. Estas fuentes alternativas de HSC son atractivas porque no es necesario anestesiar al donador y someterlo al procedimiento subsecuente muy invasivo por medio del cual se extrae médula ósea. Muchos autores piensan que la sangre periférica reemplazará a la médula como la fuente principal de células madre hematopoyéticas para muchas aplicaciones. Para obtener preparaciones enriquecidas de HSC de sangre periférica se usan agentes que inducen cifras mayores de HSC circulantes y después la fracción que contiene estas últimas se separa del plasma y los glóbulos rojos en un proceso denominado leucoféresis. Si es necesario, puede llevarse a cabo una purificación más amplia para eliminar células T y enriquecer la población CD34$^+$.

La sangre del cordón umbilical ya contiene un número elevado de células madre hematopoyéticas. Más aún, se obtiene del tejido placentario (las "secundinas"), que casi siempre se descarta. En consecuencia, la sangre del cordón umbilical se ha constituido en una fuente atractiva de células para trasplante de células madre hematopoyéticas. Aunque el injerto de HSC de sangre de cordón fracasa con frecuencia un poco mayor que el de células de sangre periférica, los injertos de células de sangre del cordón causan menos GVHD que los injertos de médula, tal vez porque la sangre del cordón tiene menos células T maduras.

Además de sus aplicaciones actuales en el tratamiento del cáncer, muchos investigadores piensan que el trasplante autólogo de células madre será útil para la **terapéutica génica**, es decir, la introducción de un gen normal para corregir un trastorno causado por un gen defectuoso. Los últimos adelantos de la ingeniería genética tal vez determinen pronto que la terapéutica génica sea un tratamiento realista para trastornos genéticos de células sanguíneas, y las células madre hematopoyéticas son vehículos atractivos para este método. El tratamiento implicaría extraer una muestra de células madre hematopoyéticas de un paciente, insertar un gen funcional para compensar el defectuoso y luego inyectar de nueva cuenta en el donador las células madre modificadas. La ventaja de usar células madre en la terapéutica génica radica en que se renuevan por sí mismas. Por consiguiente, cuando menos en teoría, los pacientes sólo tendrían que recibir una inyección de células madre modificadas. En contraste, la terapia génica con linfocitos maduros modificados u otras células sanguíneas exige inyecciones periódicas, toda vez que estas células no son capaces de renovarse por sí mismas.


Células madre pluripotentes humanas
Médula ósea
Células nerviosas
Células de músculo cardíaco
Células de islotes pancreáticos

Las células madre pluripotentes humanas pueden diferenciarse en una diversidad de tipos celulares, algunos de los cuales se muestran aquí. *[Adaptada de* Stem Cell Basics, *NIH Web site http://stemcell.nih.gov/info/basics. Micrografías (izquierda a derecha): Biophoto Associates/Sciences Source/Photo Researchers; Biophoto Associates/Photo Researchers; AFIP/Science Source/Photo Researchers; Astrid & Hanns-Frieder Michler/Science Photo Library/Photo Researchers.]*

CUADRO 2-5 **Marcadores CD comunes utilizados para diferenciar subpoblaciones de linfocitos funcionales**

			CÉLULAS T		
Designación CD*	**Función**	**Célula B**	**T_H**	**T_C**	**Célula NK**
CD2	Molécula de adhesión; transducción de señales	−	+	+	+
CD3	Elemento de transducción de señales del receptor de célula T	−	+	+	−
CD4	Molécula de adhesión que se une a moléculas MHC clase II; transducción de señales	−	+ (casi siempre)	− (casi siempre)	−
CD5	Desconocida (subconjunto)	−	−	+	+
CD8	Molécula de adhesión que se une a moléculas MHC clase I; transducción de señales	−	− (casi siempre)	+ (casi siempre)	+ (variable)
CD16 (FcγRIII)	Receptor de baja afinidad para la región Fc de IgG	−	−	−	+
CD21 (CR2)	Receptor para complemento (C3d) y virus de Epstein-Barr	+	−	−	−
CD28	Receptor para molécula B7 coestimuladora en células presentadoras de antígeno	−	+	+	−
CD32 (FcγRII)	Receptor para la región Fc de IgG	+	−	−	−
CD35 (CR1)	Receptor para complemento (C3b)	+	−	−	−
CD40	Transducción de señales	+	−	−	−
CD45	Transducción de señales	+	+	+	+
CD56	Molécula de adhesión	−	−	−	+

*Los sinónimos se muestran entre paréntesis.

Los diferentes linajes de etapas de maduración de linfocitos pueden distinguirse por su expresión de moléculas de membrana reconocidas por anticuerpos monoclonales particulares (anticuerpos específicos de un epítopo aislado de un antígeno; véase en el cap. 4 la descripción de los anticuerpos monoclonales). Todos los anticuerpos monoclonales que reaccionan con una molécula de membrana particular pertenecen a un **grupo de diferenciación** (**CD**, del inglés *cluster of differentiation*). Se analiza cada nuevo anticuerpo monoclonal que reconoce una molécula de membrana de un leucocito para determinar si se encuentra dentro de una designación CD reconocida; si no es así, se le confiere una nueva designación CD que señala una nueva molécula de membrana. Aunque la nomenclatura CD se ideó al principio para las moléculas de membrana de leucocitos humanos, las moléculas de membrana homólogas de otras especies, como el ratón, suelen describirse con las mismas designaciones CD. En el cuadro 2-5 se incluyen algunas de las moléculas CD (que muchas veces se conocen como marcadores CD) halladas en linfocitos humanos. Sin embargo, sólo es una lista parcial de los más de 250 marcadores CD descritos. En el apéndice 1 se presentan una lista y la descripción de los marcadores CD conocidos.

Las características y funciones generales de los linfocitos B y T se revisan brevemente en las secciones que siguen. Estas células centrales del sistema inmunitario se examinan con mayor detalle en capítulos posteriores.

Linfocitos B (células B)

La designación B de los linfocitos procede de la *b*olsa de Fabricio, sitio donde maduran estas células en las aves; el nombre resultó adecuado toda vez que la médula ósea (en inglés *bone marrow*) es también su principal lugar de maduración en varias especies de mamíferos, entre ellas el ser humano y los ratones. Las células B maduras se distinguen de forma definitiva de otros linfocitos y de todas las demás células por su síntesis y exhibición de moléculas de inmunoglobulina (anticuerpo) unidas a membrana, que sirven como receptores para antígeno. Cada una de las alrededor de 1.5×10^5 moléculas de anticuerpo en la membrana de una célula B individual tiene un sitio de unión idéntico para antígeno. Cuando un linfocito B virgen (que no ha tenido un encuentro previo con un antígeno) se topa con uno que concuerda con su anticuerpo unido a membrana, la unión del antígeno con el anticuerpo hace que la célula se divida rápidamente; su progenie se diferencia en **células efectoras** llamadas **células plasmáticas** y en **linfocitos B de memoria**. Estos últimos tienen un lapso de vida mayor que los linfocitos B vírgenes, y expresan el mismo anticuerpo unido a membrana que su célula B progenitora. Las células plasmáticas, por otro lado, producen el anticuerpo en una forma que puede ser secretada y poseen poco o nada de anticuerpo unido a membrana. Estas células son células diferenciadas en sentido terminal y no se dividen. Aunque es posible encontrar algunas poblaciones longevas en la médula ósea, muchas mueren en una a dos semanas. Están altamente especializadas en la secreción de anticuerpo, y se estima que una sola célula es capaz de secretar desde unos pocos cientos hasta más de mil moléculas de anticuerpo por segundo.

Linfocitos T (células T)

Los linfocitos T derivan su nombre de su sitio de maduración en el *t*imo. Durante este proceso, la célula T adquiere la capacidad de expresar en su membrana una molécula única de unión a antígeno llamada **receptor de célula T**. A diferencia de los anticuerpos unidos a membrana de los linfocitos B, que pueden reconocer antígeno libre, los receptores de los linfocitos T sólo reconocen antígeno unido a proteínas de membrana llamadas **moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad** (**MHC**, del inglés *major histocompatibility complex*). Las moléculas del MHC (o moléculas MHC, para abreviar) que intervienen en este proceso de reconocimiento (llamado *presentación de antígeno*) son glucoproteínas genéticamente diversas (polimórficas) presentes en las membranas celulares (cap. 8). Existen dos tipos principales de moléculas MHC: las de clase I, que son expresadas prácticamente por todas las células nucleadas de los vertebrados, y las de clase II, que son expresadas sólo por unos cuantos tipos celulares que se especializan en la presentación de antígeno. Cuando un linfocito T reconoce antígeno asociado con una molécula MHC sobre una célula, en circunstancias apropiadas el linfocito prolifera y se diferencia en diversas células T efectoras y células T de memoria.

Existen dos subpoblaciones bien definidas de células T: **células T colaboradoras (T_H)** y **células T citotóxicas (T_C)**; recientemente se caracterizó una tercera subpoblación de células T, las **células T reguladoras (T_{reg})**. Las células T colaboradoras y las citotóxicas pueden distinguirse entre sí por la presencia de glucoproteínas de membrana CD4 o CD8 en sus superficies. Las células T que exhiben CD4 generalmente funcionan como linfocitos T_H, mientras que las que exhiben CD8 por lo general funcionan como linfocitos T_C. Por tanto, la proporción entre células T_H y T_C en una muestra puede estimarse determinando el número de células T $CD4^+$ y $CD8^+$. Esta proporción es de alrededor de 2:1 en sangre periférica humana normal, pero suele alterarse en grado significativo en enfermedades de inmunodeficiencia, autoinmunitarias y de otros tipos. Después de ser activadas por la interacción con complejos antígeno-MHC adecuados, las células T_H se diferencian en células efectoras que facilitan la activación (o "colaboran" en ella) de linfocitos B, linfocitos T_C, macrófagos y otras células diversas que participan en la inmunorreacción. De manera alternativa, algunas células T_H se diferencian en células de memoria en vez de hacerlo en células efectoras.

El reconocimiento de complejos antígeno-MHC por una célula T_C desencadena su proliferación y diferenciación en una célula efectora llamada linfocito T citotóxico (CTL) o en una célula de memoria. El CTL tiene el papel vital de vigilar las células del cuerpo y eliminar a cualquiera que exhiba antígeno extraño en complejo con MHC clase I, como es el caso de células infectadas por virus, células tumorales y células de un injerto de tejido ajeno.

Las células T reguladoras se identifican por la presencia tanto de CD4 como de CD25 en sus membranas. Sin embargo, a diferencia de los linfocitos T colaboradores que portan CD4, los linfocitos T_{reg} suprimen inmunorreacciones: son reguladores negativos del sistema inmunitario. Al igual que las células T_H y las T_C, los miembros de la subpoblación T_{reg} de células T pueden ser progenitores de células de memoria.

Las poblaciones de células B y T comprenden subpoblaciones de clonas

Todos los receptores de antígeno en la superficie de un linfocito B o T dado tienen estructura idéntica y por tanto idéntica especificidad para antígeno. Si un linfocito dado se divide para formar dos células hijas, éstas tendrán ambos receptores con idéntica especificidad de antígeno entre sí y con la célula de la que surgieron, y lo mismo ocurrirá con los descendientes que lleguen a producir. La población resultante de linfocitos, toda la cual surge del mismo linfocito fundador, constituye una **clona**. En un momento dado, un ser humano o un ratón tendrán decenas de miles, quizá cien mil clonas distintas de células B y T, cada una de las cuales se caracteriza por propia cohorte idéntica y distintiva de receptores de antígeno. El contacto con un antígeno induce a estas células a proliferar y diferenciarse. Los productos de este proceso incluyen tanto células efectoras como células de memoria. Las células efectoras realizan funciones específicas, mientras que las células de memoria *persisten* en el hospedador y en caso de un nuevo contacto con el mismo antígeno median una respuesta que es tanto más rápida como de mayor magnitud. El primer encuentro se denomina respuesta primaria, y el reencuentro, respuesta secundaria.

Células asesinas naturales

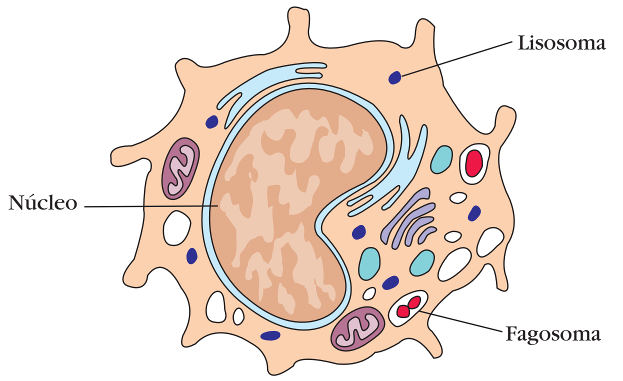
El cuerpo contiene una población pequeña de linfocitos granulares grandes llamados células asesinas naturales (células NK, del inglés *natural killer cell*)* que poseen actividad citotóxica contra una amplia gama de células tumorales y contra células infectadas por determinados virus. Una característica extraordinaria de estas células, que constituyen 5 a 10% de los linfocitos en sangre periférica humana, es su capacidad de reconocer células tumorales o infectadas por virus a pesar de que carecen de receptores específicos de antígeno. Las células asesinas naturales son parte del sistema inmunitario innato, y la mayoría está desprovista de receptores de célula T o inmunoglobulina incorporada en sus membranas plasmáticas; en otras palabras, no expresan las moléculas de membrana ni los receptores que distinguen a los linajes de células B y T. Las células NK reconocen blancos celulares potenciales de dos modos distintos. En algunos casos, utilizan receptores de célula NK para distinguir anormalidades, en especial un decremento de la exhibición de moléculas MHC clase I o el perfil poco común de antígenos de superficie que poseen algunas células tumorales y células infectadas por ciertos virus. Además, en algunos casos estos dos tipos de células anormales exhiben antígenos contra los cuales el sistema inmunitario ha montado una respuesta de anticuerpo, de tal manera que están unidos a sus superficies anticuerpos antitumorales o antivíricos. Debido a que las células NK expresan un receptor de membrana (CD16) para una región específica de la molécula de anticuerpo, pueden unirse a estos anticuerpos y destruir después las células blanco. Éste es un ejemplo de un proceso denominado **citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo** (**ADCC**, del inglés *antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity*). El mecanismo exacto de la citotoxicidad de las células NK, que es el foco de gran parte de los estudios experimentales actuales, se describe con mayor extensión en el capítulo 14.

Cada vez se reconoce más otro tipo celular, la **célula NKT**, que tiene algunas de las características de las células T y NK. Al igual que las células T, las NKT poseen receptores de célula T (TCR). En cambio, a diferencia de la mayor parte de las células T, los TCR de células NKT interactúan con moléculas parecidas a MHC llamadas CD1 y no con las moléculas MHC clase I o II. Tal y como se observa en las células NK, tienen valores va-

---

**N. del T.*: una traducción más precisa del inglés *natural killer cells* sería "células asesinas por naturaleza", dada la avidez con que estos linfocitos atacan células del propio hospedador, si bien sólo las tumorales o infectadas por virus. Sin embargo, en español ha tomado carta de naturalización el término "células asesinas naturales", y aquí se seguirá esa práctica.

a) Monocito



b) Macrófago

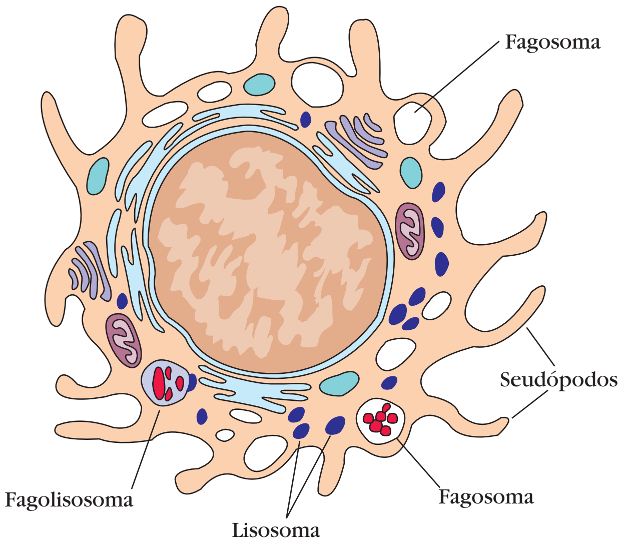


FIGURA 2-7 Morfología típica de: a) un monocito y b) un macrófago. Los macrófagos son cinco a 10 veces más grandes que los monocitos y contienen más organelos, en especial lisosomas.

riables de CD16 y otros receptores típicos de células NK y pueden destruir células marcadas. Una población de células NKT activadas es capaz de secretar con rapidez grandes cantidades de las citocinas necesarias para mantener la producción de anticuerpo por células B y, asimismo, la inflamación y el desarrollo y expansión de células T citotóxicas. Hay gran interés por la determinación de las funciones exactas de las células NKT en la inmunidad.

Fagocitos mononucleares

El sistema fagocítico mononuclear comprende **monocitos** que circulan en la sangre y **macrófagos** diseminados en los tejidos (fig. 2-7). Durante la hematopoyesis en la médula ósea las células progenitoras de granulocitos y monocitos se diferencian en promonocitos, que salen de la médula ósea y pasan a la sangre, en donde se diferencian de modo adicional en monocitos maduros. Los monocitos circulan en el torrente sanguíneo alrededor de ocho horas, durante las cuales crecen; a continuación, migran hacia los tejidos y se diferencian en macrófagos específicos de tejido.

La diferenciación de un monocito en un macrófago tisular incluye varios cambios: la célula crece cinco a 10 veces; sus organelos intracelulares aumentan en número y complejidad; adquiere mayor capacidad fagocítica, que produce concentraciones más altas de enzimas hidrolíticas, y comienza a secretar una diversidad de factores solubles. Los macrófagos se dispersan en la totalidad del cuerpo. Algunos residen en tejidos particulares y se constituyen en macrófagos fijos, en tanto que otros permanecen movibles y se llaman macrófagos libres o errantes. Los macrófagos libres se desplazan a través de los tejidos mediante movimientos ameboides. Las células parecidas a macrófagos tienen diferentes funciones en distintos tejidos y se denominan conforme a su localización tisular:

- **Macrófagos intestinales** en los intestinos
- **Macrófagos alveolares** en el pulmón
- **Histiocitos** en los tejidos conectivos
- **Células de Kupffer** en el hígado
- **Células mesangiales** en el riñón
- **Células microgliales** en el cerebro
- **Osteoclastos** en el hueso

Los macrófagos son activados por una diversidad de estímulos en el curso de una reacción inmunitaria. La fagocitosis de antígenos particulados o el contacto con receptores que captan moléculas presentes en los patógenos microbianos a menudo sirve como un estímulo activador inicial. Sin embargo, la actividad del macrófago puede ser estimulada de manera adicional por citocinas que secretan células T_H activadas y por mediadores de la respuesta inflamatoria.

Los macrófagos activados son más eficaces que los que se encuentran en reposo para eliminar patógenos potenciales por varias razones. Presentan más actividad fagocítica, mayor potencial de destruir microorganismos ingeridos, mayor secreción de mediadores inflamatorios y mayor capacidad de activar células T. Además, los macrófagos activados, aunque no los que se encuentran en reposo, secretan diversas proteínas citotóxicas que los ayudan a eliminar una amplia variedad de patógenos, incluidas células infectadas por virus, células tumorales y bacterias intracelulares. En el capítulo 3 se hablará más sobre las actividades antimicrobianas de los macrófagos. Los macrófagos activados también expresan valores más altos de moléculas MHC clase II, que les permiten funcionar con mayor eficacia como células presentadoras de antígeno. Por consiguiente, los macrófagos y las células T_H facilitan entre sí la activación durante la reacción inmunitaria.

La fagocitosis es seguida de la digestión y presentación de antígeno

Los macrófagos son capaces de ingerir y digerir antígenos exógenos, como microorganismos completos y partículas insolubles, y material endógeno, como células hospedadoras lesionadas o muertas, desechos celulares y factores de la coagulación activados. La fagocitosis es iniciada por la adhesión del antígeno a la

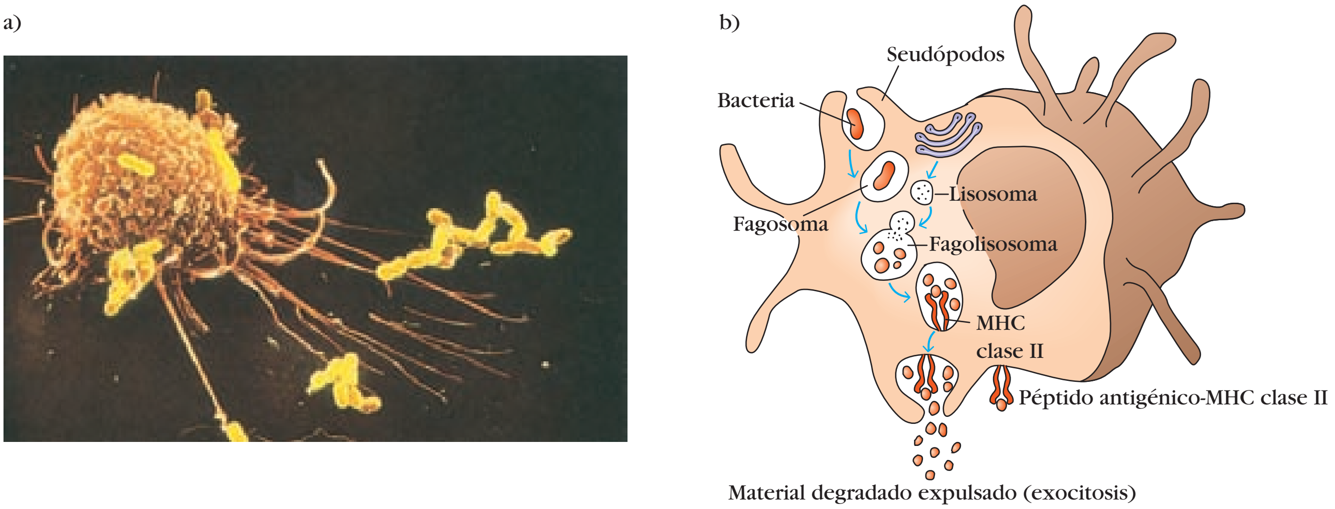

a)
b)
Seudópodos
Bacteria
Lisosoma
Fagosoma
Fagolisosoma
MHC
clase II
Péptido antigénico-MHC clase II
Material degradado expulsado (exocitosis)

FIGURA 2-8 Los macrófagos pueden ingerir y degradar antígenos particulados, incluidas las bacterias. a) Micrografía electrónica de barrido de un macrófago. Obsérvense los largos seudópodos que se extienden hacia las células bacterianas y sin contacto con ellas, una etapa temprana de la fagocitosis. b) Fagocitosis y procesamiento de antígeno exógeno por macrófagos. Casi todos los productos que resultan de la digestión del material ingerido se expulsan (exocitosis), pero algunos productos peptídicos pueden interactuar con moléculas MHC clase II y formar complejos que se mueven hacia la superficie celular, en donde se presentan a células T_H. *[(a) L. Nilsson, Boehringer Ingelheim International GmbH.]*

membrana celular del macrófago. Los antígenos complejos, como células bacterianas completas o partículas víricas, tienden a adherirse bien y se fagocitan con facilidad; las proteínas aisladas y las bacterias encapsuladas se adhieren mal y se fagocitan con menor facilidad. La adhesión induce salientes de la membrana, llamadas **seudópodos**, que se extienden alrededor del material fijado (fig. 2-8a). La fusión de los seudópodos encierra el material dentro de una estructura limitada por una membrana conocida como **fagosoma**, que a continuación ingresa a la vía endocítica de procesamiento (fig. 2-8b). En esta vía, un fagosoma se mueve hacia el interior de la célula, en donde se fusiona con un **lisosoma** para formar un **fagolisosoma**. Los lisosomas contienen una variedad de enzimas hidrolíticas que digieren el material fagocitado. Después se elimina el contenido digerido del fagolisosoma mediante un proceso llamado **exocitosis** (fig. 2-8b).

La membrana del macrófago tiene receptores para ciertas clases de anticuerpos. Si un antígeno (p. ej., una bacteria) está recubierto con el anticuerpo apropiado, el complejo de antígeno y anticuerpo se une con mayor facilidad a los receptores de anticuerpo en la membrana del macrófago que un antígeno solo y mejora la fagocitosis. Por ejemplo, en un estudio, la rapidez de fagocitosis de un antígeno fue 4 000 veces más alta en presencia de un anticuerpo específico para el antígeno que en su ausencia. Por consiguiente, el anticuerpo actúa como una **opsonina**, una molécula que se une al antígeno y el macrófago e incrementa la fagocitosis. El proceso por el cual las opsoninas hacen a los antígenos particulados más susceptibles a la fagocitosis se denomina **opsonización**.

Aunque la mayor parte del antígeno ingerido por macrófagos se degrada y elimina, experimentos con antígenos radiomarcados demuestran la presencia de péptidos antigénicos en la membrana del macrófago. Como se muestra en la figura 2-8b, el antígeno fagocitado se digiere en la vía endocítica de procesamiento y es convertido en péptidos que se vinculan con moléculas MHC clase II; estos complejos péptido-MHC clase II se dirigen a continuación a la membrana del macrófago. Tales procesamiento y presentación de antígeno, que se examinan con detalle en el capítulo 8, son críticos para la activación de la célula T_H, un fenómeno central en el desarrollo de reacciones inmunitarias humorales y mediadas por células. Por último, como se expone en el capítulo 3, los macrófagos activados secretan proteínas reguladoras que son importantes para el desarrollo de las inmunorreacciones.

Células granulocíticas

Los **granulocitos** se clasifican en neutrófilos, eosinófilos o basófilos, según la morfología celular y las características de tinción citoplásmica (fig. 2-9). El **neutrófilo** tiene un núcleo multilobulado y un citoplasma granuloso que se tiñe con colorantes ácidos y básicos; con frecuencia se conoce como leucocito polimorfonuclear (PMN) por su núcleo multilobulado. El **eosinófilo** tiene un núcleo bilobulado y un citoplasma granuloso que se tiñe con el colorante ácido rojo eosina (de ahí su nombre). El **basófilo** posee un núcleo lobulado y un citoplasma muy granuloso que se tiñe con el colorante básico azul de metileno. Los neutrófilos y eosinófilos son fagocíticos, no así los basófilos. Los neutrófilos, que constituyen 50 a 70% de los glóbulos blancos circulantes, son mucho más numerosos que los eosinófilos (1 a 3%) o los basófilos ($<1\%$).

Neutrófilos

Los neutrófilos se forman por hematopoyesis en la médula ósea. Se liberan a la sangre periférica y circulan durante siete a 10 horas antes de migrar a los tejidos, en donde tienen un lapso de vida de sólo unos cuantos días. En respuesta a muchos tipos de infecciones, la médula ósea libera más de la cantidad

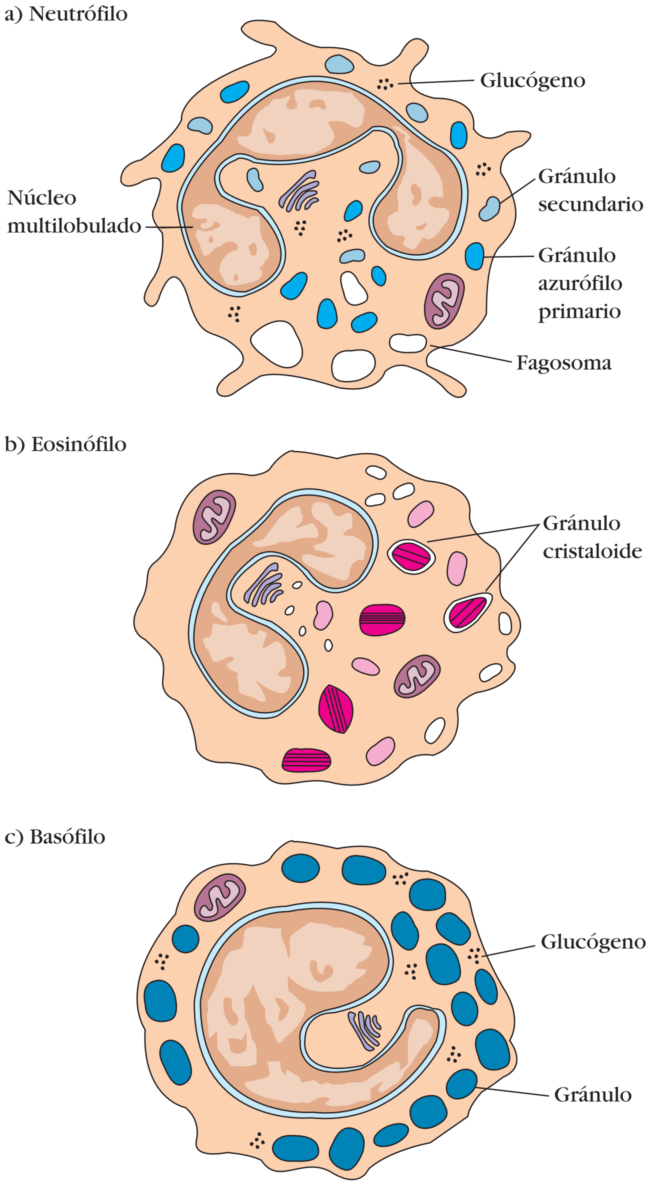


FIGURA 2-9 Esquemas que muestran la morfología típica de los granulocitos. Obsérvese las diferencias en la forma del núcleo y el número y aspecto de los granulocitos citoplásmicos.

usual de neutrófilos y estas células suelen ser las primeras que llegan al sitio de inflamación. El incremento transitorio resultante del número de neutrófilos circulantes, llamado **leucocitosis**, se utiliza en clínica como una indicación de infección.

El desplazamiento de neutrófilos circulantes hacia los tejidos, lo que se conoce como **extravasación**, requiere varias etapas: primero la célula se adhiere al endotelio vascular, a continuación penetra en la brecha entre células endoteliales adyacentes que recubren la pared vascular, y por último ingresa a la membrana basal vascular y se dirige a los espacios tisulares. (Este proceso se describe con mayor detalle en el capítulo 3.) Varias sustancias producidas en una reacción inflamatoria sirven como **factores quimiotácticos** que promueven la acumulación de neutrófilos en un sitio inflamatorio. Entre estos factores quimiotácticos se encuentran algunos componentes del complemento, constituyentes del sistema de coagulación de la sangre y varias citocinas secretadas por macrófagos y células T_H activados.

Al igual que los macrófagos, los neutrófilos son fagocitos. La fagocitosis por neutrófilos es similar a la descrita para macrófagos, excepto porque las enzimas líticas y las sustancias bactericidas de los neutrófilos están incluidas dentro de gránulos primarios y secundarios (fig. 2-9a). Los gránulos primarios, más densos y grandes, son un tipo de lisosoma que contiene peroxidasa, lisozima y varias enzimas hidrolíticas. Los gránulos secundarios, más pequeños, incluyen colagenasa, lactoferrina y lisozima. Unos y otros se fusionan con fagosomas, cuyo contenido se digiere a continuación y se elimina. Los neutrófilos generan una variedad de sustancias antimicrobianas, que se examinarán en el capítulo 3.

Eosinófilos

Tal y como se observa con los neutrófilos, los eosinófilos son células fagocíticas móviles (fig. 2-9b) que pueden migrar de la sangre hacia los espacios tisulares. Su función fagocítica es significativamente menos importante que la de los neutrófilos, y se piensa que intervienen en la defensa contra microorganismos parásitos secretando el contenido de los gránulos eosinofílicos, lo cual suele dañar la membrana de los parásitos.

Basófilos

Los basófilos son granulocitos no fagocíticos (fig. 2-9c) que se producen por hematopoyesis y cuya función es liberar sustancias farmacológicamente activas de sus gránulos citoplásmicos. Estas sustancias tienen un papel importante en ciertas reacciones alérgicas.

Células cebadas

Los precursores de células cebadas, que se forman en la médula ósea mediante hematopoyesis, se liberan hacia la sangre como células indiferenciadas; no se diferencian sino hasta que salen de la sangre y penetran en los tejidos. Las células cebadas (o mastocitos) pueden encontrarse en muchos tejidos, que incluyen piel, tejidos conectivos de diversos órganos y tejido mucoso epitelial de las vías respiratoria, genital y digestiva. Como sucede con los basófilos circulantes, estas células presentan un gran número de gránulos citoplásmicos que contienen histamina y otras sustancias activas a nivel farmacológico. Las células cebadas, aunadas a los basófilos sanguíneos, tienen una participación esencial en el desarrollo de alergias (cap. 15).

Células dendríticas

Identificadas en 1868 por Paul Langerhans durante un detallado estudio anatómico de la piel, las células dendríticas fueron las primeras células del sistema inmunitario en ser descubiertas. La **célula dendrítica** (**DC**, del inglés *dendritic cell*) recibió ese nombre porque está cubierta de largas extensiones membranosas que semejan las dendritas de las células nerviosas. Existen muchos tipos de esta célula, y se reconocen al menos cuatro categorías principales: de Langerhans, intersticiales, derivadas de monocitos y derivadas de plasmacitoides. Cada una de ellas surge de células madre hematopoyéticas a través de diferentes vías y en distintos sitios (fig. 2-10). Las DC de Langerhans se encuentran en

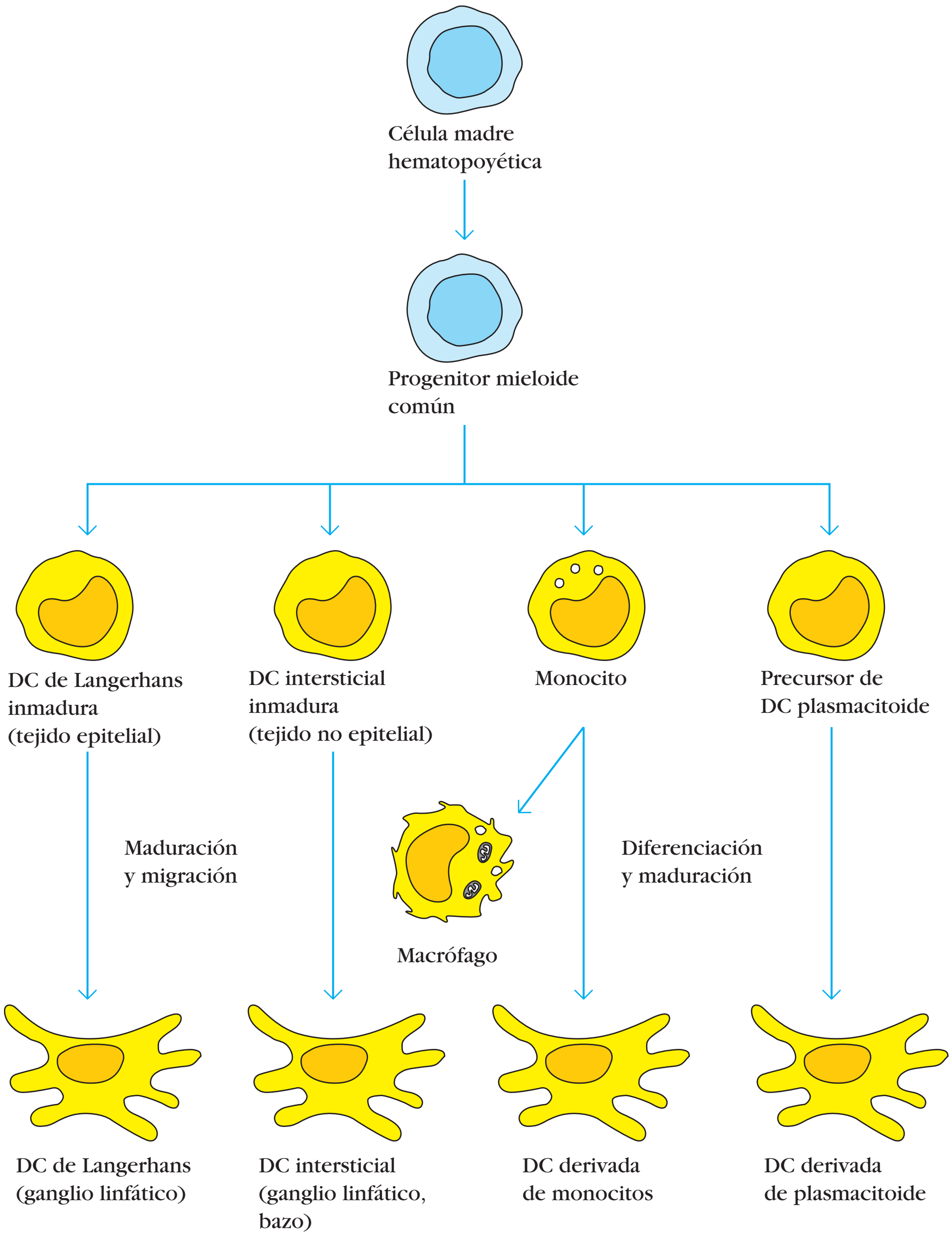

Célula madre hematopoyética
Progenitor mieloide común
DC de Langerhans inmadura (tejido epitelial)
DC intersticial inmadura (tejido no epitelial)
Monocito
Precursor de DC plasmacitoide
Maduración y migración
Macrófago
Diferenciación y maduración
DC de Langerhans (ganglio linfático)
DC intersticial (ganglio linfático, bazo)
DC derivada de monocitos
DC derivada de plasmacitoide

FIGURA 2-10 **Diferentes tipos de células dendríticas y sus orígenes.**

capas epidérmicas de la piel, y las intersticiales están presentes en los espacios intersticiales de virtualmente todos los órganos excepto el encéfalo. Como su nombre lo indica, las DC derivadas de monocitos provienen de monocitos que han emigrado del torrente sanguíneo a los tejidos. Desde aquí pueden viajar por la linfa a los ganglios linfáticos o volver al torrente sanguíneo y usarlo como avenida de transporte hacia el tejido linfoide.

Las DC de la tercera categoría surgen de células plasmacitoides. Participan en la defensa inmunitaria innata y como células presentadoras de antígeno. Aunque existen importantes diferencias en las funciones y los fenotipos de las distintas variedades de DC, todas exhiben moléculas MHC clase I y clase II, y en todas está presente la familia B7 de moléculas coestimuladoras, CD80 y CD86. Las células dendríticas también tienen CD40, una molécula capaz de influir en el comportamiento de los linfocitos T por interacción con un ligando complementario presente en la superficie de éstos.

Las células dendríticas son versátiles; existen en muchas formas y realizan las distintas funciones de captura de antígeno en un sitio y presentación de antígeno en otro. Fuera de los ganglios linfáticos, las formas inmaduras de estas células vigilan el organismo en busca de signos de invasión por patógenos y capturan antígenos intrusos o externos. Entonces emigran a los ganglios linfáticos, donde presentan el antígeno a células T. Cuando actúan como centinelas en la periferia, las células dendríticas inmaduras toman a su cargo el antígeno de tres maneras. Lo engullen por fagocitosis, lo internalizan mediante endocitosis mediada por receptor, o lo inhiben por pinocitosis. De hecho, las células dendríticas inmaduras captan por pinocitosis 1 000 a 1 500 μm^3 de líquido por hora, un volumen muy cercano al de la célula misma. A través de un proceso de maduración, cambian de un fenotipo que captura antígeno a otro que apoya la presentación de antígeno a células T. En esa transición se pierden unos atributos y se ganan otros. Entre lo que se pierde está la capacidad de fagocitosis y la de pinocitosis a gran escala. La expresión de MHC clase II aumenta, lo cual es necesario para presentar antígeno a las células T_H, y también aumenta la producción de moléculas coestimuladoras esenciales para la activación de células T vírgenes. Al madurar, las células dendríticas salen de los tejidos periféricos, pasan a la circulación sanguínea o linfática, emigran a regiones de los órganos linfoides donde residen linfocitos T, y les presentan antígeno.

Células dendríticas foliculares

Las **células dendríticas foliculares** no se originan en la médula ósea y tienen funciones del todo distintas de las descritas para las DC recién consideradas. Las células dendríticas foliculares no expresan moléculas MHC clase II y por tanto no funcionan como células presentadoras de antígeno para la activación de linfocitos T_H. Estas células dendríticas se denominaron así por su localización exclusiva en estructuras organizadas de los ganglios linfáticos llamadas folículos linfáticos, que son abundantes en células B. Aunque no expresan moléculas clase II, las células dendríticas foliculares sí expresan concentraciones elevadas de receptores de membrana para anticuerpo, lo que permite la unión eficiente de complejos de antígeno y anticuerpo. Como se expone en el capítulo 11, la interacción de los linfocitos B con DC foliculares es un paso importante en la maduración y diversificación de las células B.

Órganos del sistema inmunitario

Varios órganos y tejidos, distintos desde los puntos de vista morfológico y funcional, tienen diversas funciones en la formación de las respuestas inmunitarias (fig. 2-11) y pueden distinguirse en **órganos linfoides primarios** y **secundarios**. El timo y la médula ósea son los órganos linfoides primarios (o centrales) en los que se lleva a cabo la maduración de linfocitos. Los órganos linfoides secundarios (periféricos) son ganglios linfáticos, bazo y diversos tejidos linfoides relacionados con mucosas (MALT, del inglés *mucosa-associated lymphoid tissues*), como el tejido linfoide intestinal (GALT, del inglés *gut-associated lymphoid tissue*). Estos órganos proporcionan sitios para que los linfocitos maduros interactúen con antígeno. Una vez que se han generado linfocitos maduros en los órganos linfoides primarios, circulan en la sangre y el **sistema linfático**, una red de vasos que recoge líquido escapado hacia los tejidos desde los capilares del sistema circulatorio y lo devuelve a la sangre.

Órganos linfoides primarios

Los linfocitos inmaduros que se generan en la hematopoyesis maduran y adquieren una especificidad antigénica particular dentro de los órganos linfoides primarios. Sólo después de que los linfocitos maduran dentro de un órgano linfoide primario, la célula es **inmunocompetente** (capaz de activar una reacción inmunitaria). Las células T se originan en la médula ósea y se desarrollan en el **timo**. En muchos mamíferos (p. ej., el ser humano y los ratones), las células B se originan en la **médula ósea**.

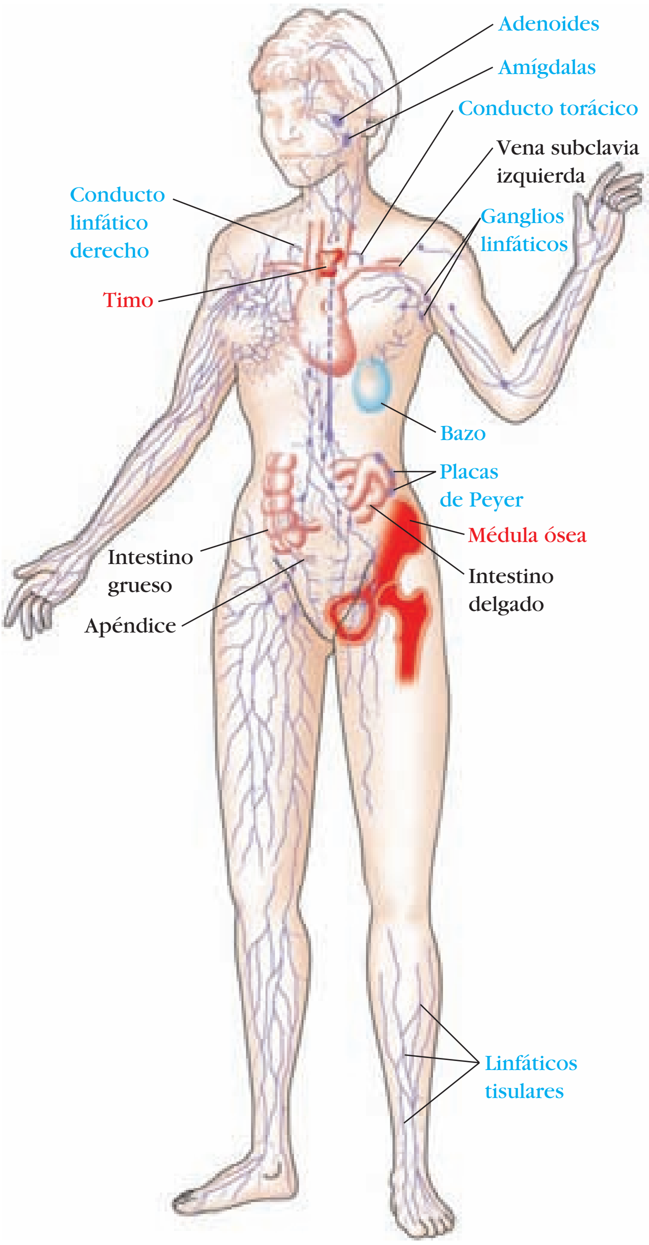


FIGURA 2-11 Sistema linfoide humano. Se muestran los órganos primarios (médula ósea y timo) en rojo; los órganos y tejidos secundarios en azul. Estos órganos y tejidos linfoides, diversos desde los puntos de vista estructural y funcional, están interconectados por los vasos sanguíneos (no se muestran) y vasos linfáticos (púrpura). La mayoría de los linfáticos del cuerpo al final desembocan en el conducto torácico, que vierte su contenido en la vena subclavia izquierda. Sin embargo, los vasos que drenan el brazo derecho y el lado derecho de la cabeza convergen para formar el conducto linfático derecho, que vierte su contenido en la vena subclavia derecha (no se muestra). Los huesos que contienen médula son parte del sistema linfoide; normalmente las muestras de médula ósea se toman de la cresta iliaca o del esternón. *[Adaptada de H. Lodish et al., 1995,* Molecular Cell Biology, *3rd ed., Scientific American Books, New York.]*

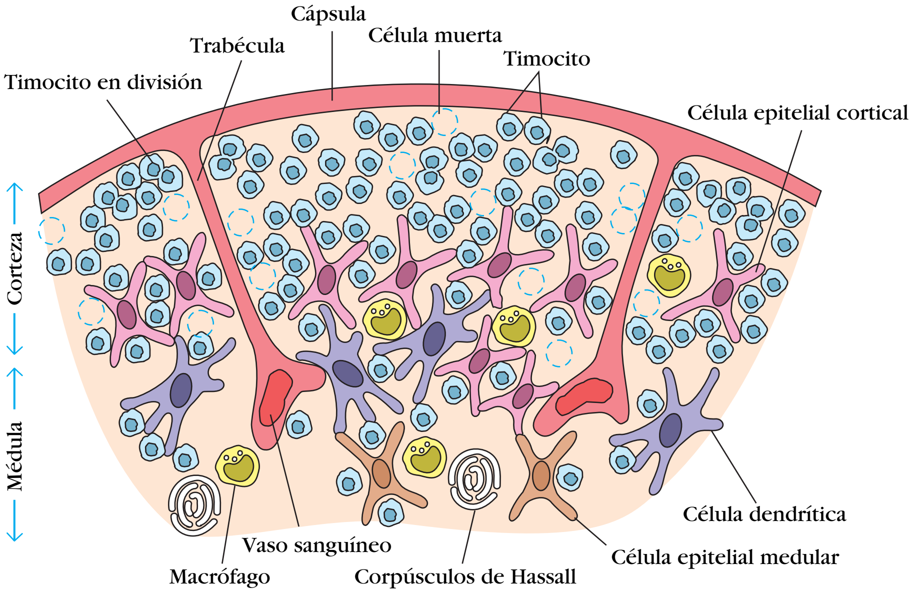


FIGURA 2-12 Corte transversal esquemático de una porción del timo que muestra varios lobulillos separados por cordones de tejido conectivo (trabéculas). La corteza externa, densamente poblada, contiene muchos timocitos inmaduros (azul), que sufren proliferación rápida junto con una tasa muy elevada de muerte celular. La médula está escasamente poblada y contiene timocitos más maduros. Durante su permanencia en el timo, los timocitos interactúan con diversas células estromales, incluidas las células epiteliales corticales (rojo claro), células epiteliales medulares (pardo), células dendríticas (púrpura) y macrófagos (amarillo). Estas células producen hormonas tímicas y expresan valores altos de moléculas MHC clases I y II. Los corpúsculos de Hassall, que se encuentran en la médula, contienen capas concéntricas de células epiteliales en degeneración. *[Adaptada con autorización de W. van Ewijk, 1991,* Annual Review of Immunology ***9****:591, © 1991 por Annual Reviews.]*

Timo

El timo es el sitio de desarrollo y maduración de las células T. Es un órgano bilobulado plano situado arriba del corazón. Cada lóbulo está rodeado por una cápsula y dividido en lobulillos, separados entre sí por cordones de tejido conectivo llamados trabéculas (fig. 2-12). Cada lóbulo se integra con dos compartimientos: el externo, o **corteza**, lo ocupan en gran densidad células T inmaduras, llamadas timocitos; el interno, o **médula**, aloja escasos timocitos.

Tanto la corteza como la médula del timo están cruzadas por una red tridimensional de células estromales compuesta de células epiteliales y dendríticas y macrófagos, que constituyen el armazón del órgano y contribuyen al crecimiento y la maduración de los timocitos. Muchas de estas células estromales interactúan físicamente con los timocitos en desarrollo. La función del timo consiste en crear y seleccionar un repertorio de células T que protegerán al cuerpo de infecciones. A medida que se desarrollan los timocitos, se produce una enorme diversidad de receptores de célula T por reconfiguración génica (cap. 9), que da lugar a algunas células T con receptores capaces de reconocer complejos de antígeno y MHC. Sin embargo, casi ninguno de los receptores de célula T que se producen por este proceso aleatorio es capaz de reconocer complejos de antígeno y MHC, y una porción pequeña reacciona con combinaciones de complejos de antígeno propio y MHC. Al utilizar los mecanismos que se exponen en el capítulo 10, el timo induce la muerte de las células T incapaces de reconocer complejos de antígeno y MHC y las que reaccionan con antígeno propio y MHC con la potencia suficiente para representar el peligro de causar una enfermedad autoinmunitaria. Más de 95% de todos los timocitos muere por apoptosis en el timo sin alcanzar nunca la madurez.

Es posible estudiar el papel del timo en la función inmunitaria en ratones al examinar los efectos de la timectomía neonatal, un procedimiento en el que se extirpa quirúrgicamente el timo de ratones recién nacidos. Estos ratones timectomizados muestran una disminución notable de linfocitos circulantes del linaje de células T y ausencia de inmunidad mediada por células. Otra prueba de la importancia del timo proviene de estudios de un defecto congénito de nacimiento en el ser humano (**síndrome de DiGeorge**) y en ciertos ratones (**ratón desnudo**). En ambos casos el timo no se desarrolla, y se advierte la ausencia de células T circulantes y de inmunidad mediada por células, además de un incremento de enfermedades infecciosas.

Se sabe que el funcionamiento del timo declina con la edad. Dicho órgano alcanza su tamaño máximo en la pubertad y luego se atrofia, con disminución considerable de células corticales y medulares e incremento del contenido total de grasa del órgano. En tanto que el peso promedio del timo es de 30 g en lactantes, su involución dependiente de la edad deja un órgano con peso promedio de sólo 3 g en la edad avanzada (fig. 2-13). La pérdida de masa dependiente de la edad se acompaña de decremento de la producción de linfocitos T. Hacia los 35 años de edad, la generación de tales células en el timo ha caído a 20% de la que ocurre en neonatos, y hacia los 65 años es de apenas 2% de este valor.

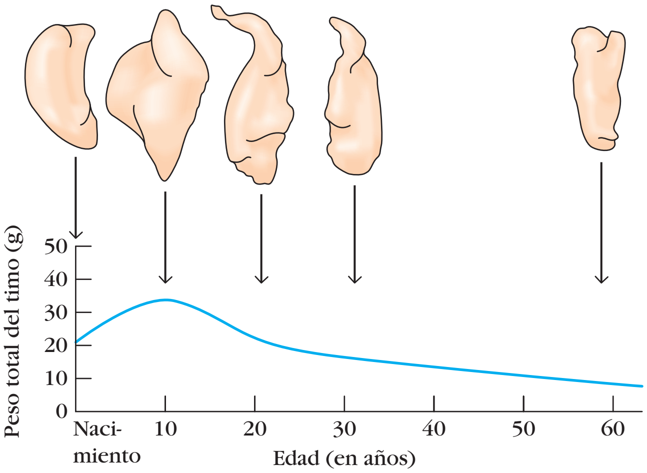


FIGURA 2-13 **Cambios del timo con la edad.** El tamaño y la celularidad del timo disminuyen después de la pubertad.

Se han diseñado varios experimentos para observar el efecto de la edad sobre la función inmunitaria del timo. En un estudio se injertó en ratones adultos timectomizados el timo de un ratón de un día o de otro de 33 meses de edad. (Para la mayoría de los ratones de laboratorio, 33 meses representa vejez avanzada.) Los ratones que recibieron el injerto de timo de recién nacidos mostraron una mejoría significativamente mayor de la función inmunitaria que los ratones a los que se injertó el timo de 33 meses de edad.

Médula ósea

La médula ósea es un tejido complejo en el que ocurren hematopoyesis y depósito de grasa. De hecho, con el paso del tiempo, 50% o más del compartimiento medular del hueso llega a ser ocupado por grasa. Las células hematopoyéticas generadas en la médula ósea avanzan a través de las paredes de los vasos sanguíneos e ingresan en la sangre circulante, que los lleva fuera de la médula ósea y distribuye estos diversos tipos celulares por el resto del cuerpo.

En el ser humano y los ratones, la médula ósea es el sitio de origen y desarrollo de las células B. Estas células inmaduras, que provienen de progenitores linfoides, proliferan y se diferencian en la médula ósea; allí las células estromales interactúan directamente con las células B y secretan varias citocinas necesarias para el desarrollo. Los linfocitos B de la médula ósea son la fuente de alrededor de 90% de las inmunoglobulinas IgG e IgA del plasma. Al igual que la selección tímica durante la maduración de las células T, un proceso de selección en la médula ósea elimina células B con receptores de anticuerpo autorreactivos. (Este proceso se explica en el capítulo 11.) A pesar de su importancia decisiva en seres humanos y ratones, la médula ósea no es el lugar de desarrollo de los linfocitos B en todas las especies. En aves, un órgano linfoide relacionado con el intestino y llamado bolsa de Fabricio es el principal punto de maduración de las células B. En mamíferos como primates y roedores no existe la bolsa ni un equivalente que sirva como órgano linfoide primario. En bovinos y ovejas, el principal tejido linfoide en el que se llevan a cabo la maduración, proliferación y diversificación de células B en un momento temprano de la gestación es el bazo fetal. Más adelante en la gestación, esta función la asume una placa de tejido incluida en la pared del intestino llamada **placa de Peyer** ileal, que contiene un gran número de células B y T. El conejo utiliza asimismo tejidos relacionados con el intestino, por ejemplo el apéndice, como tejido linfoide primario para las etapas importantes de la proliferación y diversificación de células B.

Sistema linfático

Conforme circula la sangre bajo presión, su componente líquido (**plasma**) escapa a través de la pared delgada de los capilares hacia el tejido circundante. En un adulto, dependiendo de talla y actividad, la filtración puede agregar hasta 2.9 L o más durante un período de 24 h. Este líquido, llamado **líquido intersticial**, permea todos los tejidos y baña todas las células. Si no fuera devuelto a la circulación, produciría edema (tumefacción progresiva) y con el tiempo pondría en peligro la vida. No nos preocupa este edema catastrófico porque gran parte del líquido es devuelto a la sangre a través de las paredes de las vénulas. El resto del líquido intersticial ingresa en una delicada red de tubos de pared delgada llamados vasos linfáticos primarios. La pared de los vasos primarios consta de una única capa de células endoteliales laxamente superpuestas (fig. 2-14). Aunque los capilares están cerrados en su extremo (son “ciegos”), la arquitectura porosa de los vasos primarios permite la entrada de líquidos e incluso de células en la red linfática. Dentro de estos vasos el líquido, que ahora se denomina **linfa**, fluye de la red de tubos diminutos a una serie de vasos colectores cada vez más grandes llamados **vasos linfáticos** o simplemente **linfáticos** (fig. 2-14).

El linfático más grande, el **conducto torácico**, desemboca en la vena subclavia izquierda. Reúne linfa de todo el cuerpo excepto el brazo derecho y el lado derecho de la cabeza. La linfa procedente de estas zonas se colecta en el conducto linfático derecho, que drena en la vena subclavia derecha (fig. 2-11). De esta forma, el sistema linfático recupera el líquido que se pierde de la sangre y lo devuelve a ella, lo que asegura volúmenes estables de líquido dentro del sistema circulatorio. Linfocitos, células dendríticas, macrófagos y otras células también pueden entrar a través de la delgada pared de células endoteliales laxamente unidas de los linfáticos primarios e incorporarse al flujo de linfa (fig. 2-14). El corazón no bombea la linfa a través del sistema linfático; en lugar de ello, el flujo de linfa se lleva a cabo a medida que se exprimen los vasos linfáticos por movimientos de los músculos del cuerpo. Una serie de válvulas unidireccionales a lo largo de los linfáticos asegura que la linfa sólo fluya en un sentido.

Cuando un antígeno extraño penetra en los tejidos, el sistema linfático (que drena todos los tejidos del cuerpo) lo capta y desplaza hacia varios tejidos linfoides organizados, como los ganglios linfáticos, que atrapan el antígeno extraño. A medida que pasa linfa de los tejidos a los vasos linfáticos, se enriquece de modo progresivo de linfocitos. Por consiguiente, el sistema linfático también sirve como un medio para transportar linfocitos y antígeno de los tejidos conectivos a tejidos linfoides organizados donde los linfocitos pueden interactuar con el antígeno atrapado y activarse.

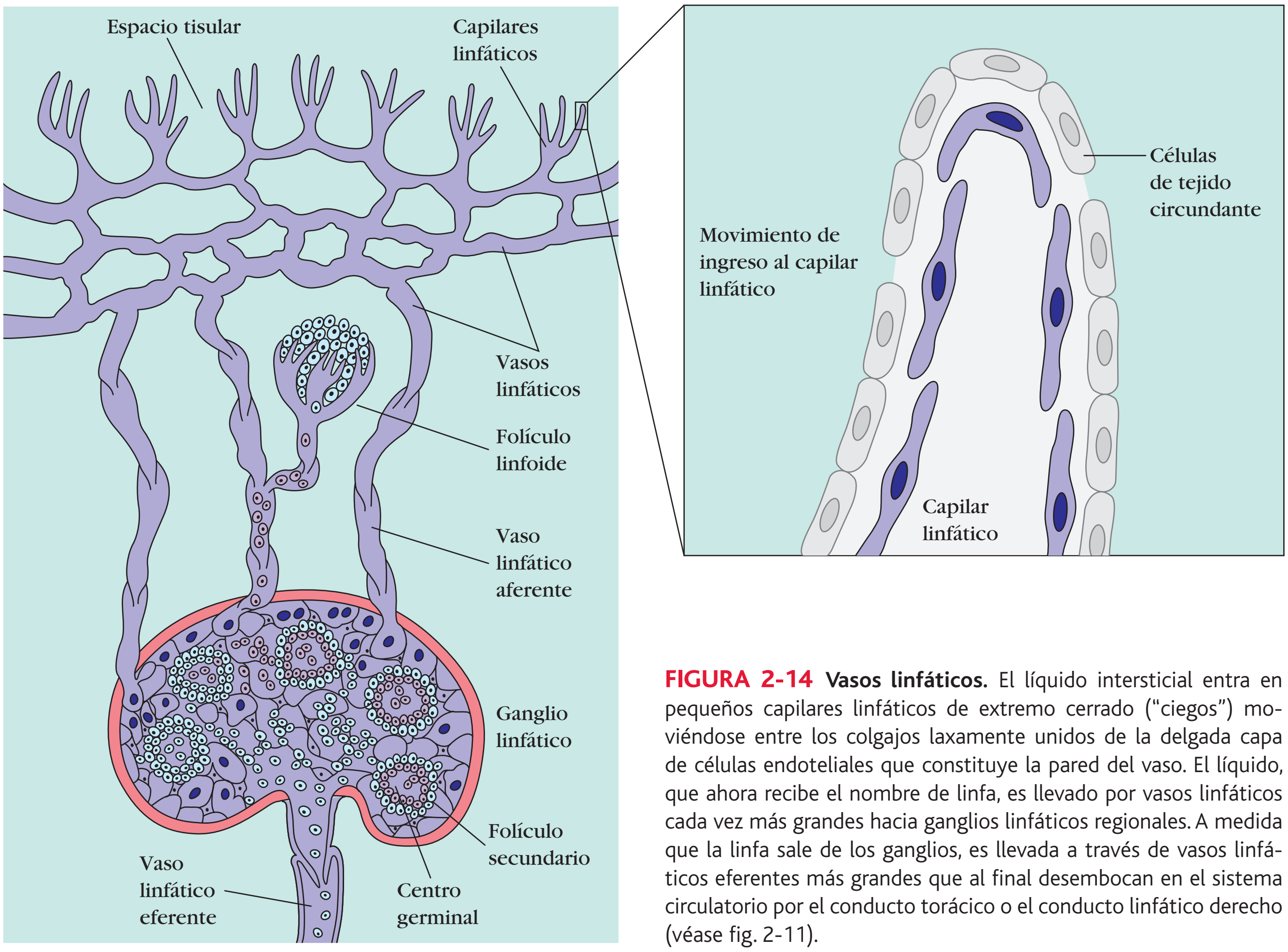


FIGURA 2-14 Vasos linfáticos. El líquido intersticial entra en pequeños capilares linfáticos de extremo cerrado ("ciegos") moviéndose entre los colgajos laxamente unidos de la delgada capa de células endoteliales que constituye la pared del vaso. El líquido, que ahora recibe el nombre de linfa, es llevado por vasos linfáticos cada vez más grandes hacia ganglios linfáticos regionales. A medida que la linfa sale de los ganglios, es llevada a través de vasos linfáticos eferentes más grandes que al final desembocan en el sistema circulatorio por el conducto torácico o el conducto linfático derecho (véase fig. 2-11).

Órganos linfoides secundarios

Varios tipos de tejidos linfoides organizados se localizan a lo largo de los vasos del sistema linfático. Cierto tejido linfoide en el pulmón y la lámina propia de la pared intestinal consiste en acumulaciones difusas de linfocitos y macrófagos. Otro tejido linfoide está organizado en estructuras llamadas folículos linfoides, que están formados por agregados de células linfoides y no linfoides rodeadas por una red de capilares linfáticos de drenaje. Mientras no lo activa un antígeno, un folículo linfoide —denominado **folículo primario**— comprende una red de células dendríticas foliculares y células B pequeñas en reposo. Después de un contacto antigénico, un folículo primario se convierte en un **folículo secundario** más grande: un anillo de linfocitos B empacados de manera concéntrica en derredor de un centro (el **centro germinal**), donde se encuentra un foco de linfocitos B en proliferación y un área que contiene células B en reposo y algunas células T colaboradoras entremezcladas con macrófagos y células dendríticas foliculares (fig. 2-15).

Los **ganglios linfáticos** y el **bazo** son los órganos linfoides secundarios más altamente organizados; no sólo incluyen folículos linfoides sino también regiones adicionales precisas de actividad de células T y B, además de que están rodeados por una cápsula fibrosa. El tejido linfoide menos organizado, conocido en conjunto como **tejido linfoide relacionado con mucosas** (**MALT**), se encuentra en varios sitios del cuerpo. El MALT incluye las placas de Peyer (en el intestino delgado), las amígdalas y el apéndice así como múltiples folículos linfoides dentro de la lámina propia de los intestinos y las mucosas que recubren las vías respiratorias superiores, los bronquios y el aparato genitourinario.

Ganglios linfáticos

Los ganglios linfáticos son los sitios en que se activan las reacciones inmunitarias a antígenos en la linfa. Son estructuras encapsuladas en forma de habichuela que contienen una configuración reticular empacada con linfocitos, macrófagos y células dendríticas. Los ganglios linfáticos, agrupados en las uniones de los vasos linfáticos, son la primera estructura linfoide organizada que encuentran los antígenos que penetran en los espacios tisulares. A medida que se filtra la linfa a través de un ganglio, cualquier antígeno particulado que se encuentre en ella queda atrapado por la red celular de células fagocíticas y dendríticas. La estructura total de un ganglio linfático confiere soporte a un microambiente ideal para que los linfocitos se encuentren y reaccionen de manera eficaz a los antígenos atrapados.

Desde el punto de vista morfológico, un ganglio linfático puede dividirse en tres regiones más o menos concéntricas: corteza, paracorteza y médula, cada una de las cuales da soporte a un microambiente distinto (fig. 2-16a). La capa más externa, la

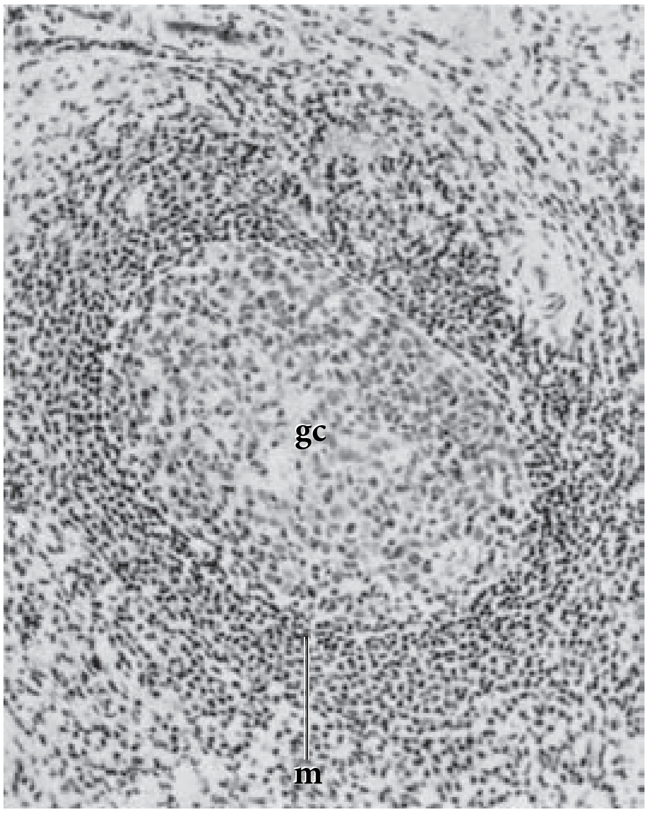


FIGURA 2-15 **Un folículo linfoide secundario incluye un centro germinal grande (gc) rodeado por un manto denso (m) de linfocitos pequeños.** *[Tomada de W. Bloom y D. W. Fawcett, 1975,* Textbook of Histology, *10th ed., © 1975 por W. B. Saunders Co.]*

corteza, contiene linfocitos (sobre todo células B), macrófagos y células dendríticas foliculares dispuestas en folículos primarios. Después de un contacto antigénico, los folículos primarios crecen para formar folículos secundarios y cada uno contiene un centro germinal. En niños con deficiencia de células B, la corteza carece de folículos primarios y centros germinales. Abajo de la corteza yace la **paracorteza**, que está poblada en gran parte por linfocitos T y contiene asimismo células dendríticas que al parecer migraron desde los tejidos al ganglio. Estas células dendríticas expresan concentraciones elevadas de moléculas MHC clase II, que son necesarias para presentar antígeno a las células T_H. La **médula** está menos densamente poblada de células de linaje linfoide, y de las presentes, muchas son células plasmáticas que secretan de forma activa moléculas de anticuerpo.

A medida que la linfa lleva el antígeno hacia un ganglio regional, las células dendríticas de la paracorteza lo atrapan, procesan y presentan junto con moléculas MHC clase II, lo que tiene como resultado la activación de células T_H. Se piensa asimismo que la activación inicial de células B se lleva a cabo dentro de la paracorteza rica en células T. Una vez que se activan, las células T_H y B forman focos pequeños que consisten, en buena medida, en células B en proliferación en los bordes de la paracorteza. Algunas células B dentro de los focos se diferencian en células plasmáticas que secretan anticuerpo. Estos focos alcanzan un tamaño máximo en el lapso de cuatro a seis días tras el contacto con antígeno. En el transcurso de cuatro a siete días después de dicho contacto, unas cuantas células B y T_H migran hacia los folículos primarios de la corteza, donde ocurren interacciones celulares entre células dendríticas foliculares, células B y células T_H que conducen al desarrollo de un folículo secundario con un centro germinal central. Algunas de las células plasmáticas que se generan en el centro germinal pasan a las áreas medulares del ganglio linfático y pueden migrar hacia la médula ósea.

Los vasos linfáticos aferentes (entrantes) perforan la cápsula de un ganglio linfático en múltiples sitios y vierten la linfa al seno subcapsular (fig. 2-16b). La linfa que procede de los tejidos se filtra con lentitud hacia el interior a través de corteza, paracorteza y médula y permite que las células fagocíticas y dendríticas atrapen cualquier bacteria o material particulado que la linfa transporte. Después de una infección o la introducción de otros antígenos en el cuerpo, la linfa que sale de un ganglio a través de su vaso linfático eferente (saliente) único se enriquece con anticuerpos recién secretados por células plasmáticas medulares y también tiene una concentración cinco veces más alta de linfocitos que la linfa aferente.

El incremento en la concentración de linfocitos en la linfa que sale de un ganglio se debe en parte a la proliferación de linfocitos dentro del ganglio en respuesta al antígeno. Sin embargo, la mayor proporción del aumento representa linfocitos de origen sanguíneo que migran al ganglio a través de las paredes de las vénulas poscapilares. Estas vénulas están recubiertas de células inusualmente masivas que les dan un aspecto engrosado, y se denominan **vénulas endoteliales altas (HEV)**. Las HEV son importantes porque la mayoría de los linfocitos que ingresan en el nodo pasa entre las células endoteliales especializadas de las HEV por extravasación, un mecanismo que se considera en el capítulo 3. Una fracción de los linfocitos que abandonan un ganglio linfático migró a través de esta capa endotelial y penetró en el ganglio desde la sangre. Debido a que la estimulación antigénica dentro de un ganglio puede incrementar esta migración 10 veces, el número de linfocitos en un ganglio que responde de manera activa puede aumentar en grado considerable, ante lo cual el ganglio se hincha de modo visible. Se piensa que los factores que se liberan en los ganglios linfáticos durante la estimulación por antígeno facilitan este incremento de la migración. En la figura 2-16b se resume el flujo de linfa y linfocitos a través de un ganglio linfático.

Bazo

El bazo, situado en la parte alta del lado izquierdo de la cavidad abdominal, es un órgano linfoide secundario ovoide y grande que tiene un papel principal en el desarrollo de reacciones inmunitarias a antígenos en el torrente sanguíneo. Mientras que los ganglios linfáticos están especializados para atrapar antígenos de tejidos locales, el bazo tiene la función particular de filtrar sangre y atrapar antígenos de origen sanguíneo; por consiguiente, puede reaccionar a infecciones sistémicas. A diferencia de los ganglios linfáticos, el bazo no recibe vasos linfáticos. En lugar de ello, los antígenos y linfocitos de origen sanguíneo llegan a este órgano a través de la arteria esplénica. Los experimentos con linfocitos marcados con radiactividad demuestran que todos los días pasan más linfocitos recirculantes a través del bazo que en todos los ganglios linfáticos en conjunto.

El bazo está rodeado por una cápsula que emite varias proyecciones (trabéculas) hacia el interior para formar una estructura segmentada. Los compartimientos son de dos tipos, pulpa rosa y pulpa blanca, separados por una zona marginal difusa

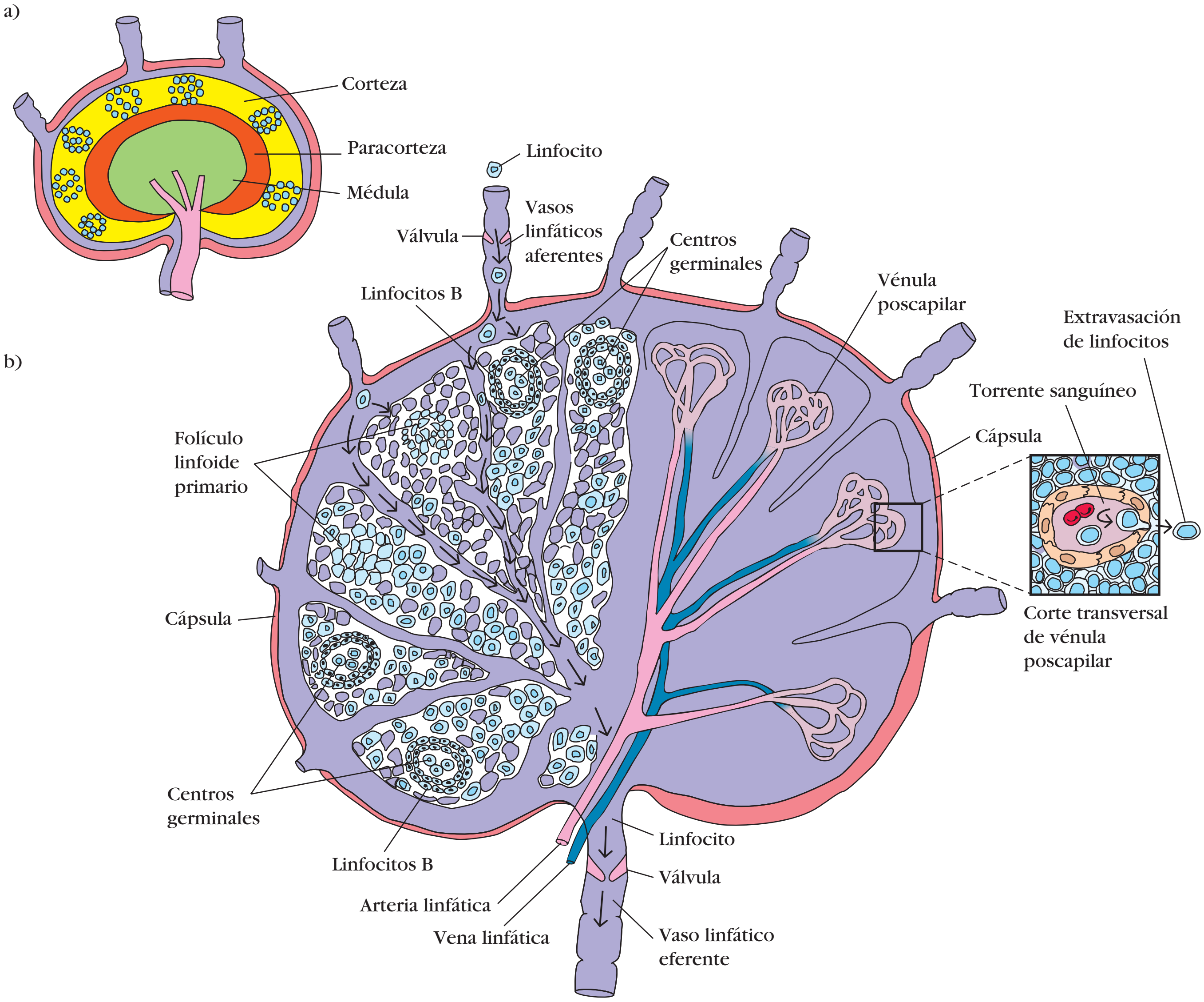

a)
Corteza
Paracorteza
Médula
b)
Linfocito
Vasos linfáticos aferentes
Válvula
Linfocitos B
Centros germinales
Vénula poscapilar
Extravasación de linfocitos
Torrente sanguíneo
Cápsula
Folículo linfoide primario
Cápsula
Corte transversal de vénula poscapilar
Centros germinales
Linfocitos B
Linfocito
Válvula
Arteria linfática
Vena linfática
Vaso linfático eferente

FIGURA 2-16 Estructura de un ganglio linfático. a) Las tres capas de un ganglio linfático dan soporte a distintos microambientes. b) El lado izquierdo muestra la disposición del retículo y los linfocitos dentro de las diversas regiones de un ganglio linfático. En la corteza y la paracorteza se encuentran macrófagos y células dendríticas, que atrapan antígeno. Las células T_H se concentran en la paracorteza; las células B se localizan sobre todo en la corteza, dentro de folículos y centros germinales. La médula está poblada en gran parte por células plasmáticas que producen anticuerpo. Los linfocitos que circulan en la linfa se desplazan dentro del ganglio por vasos linfáticos aferentes; penetran en la matriz reticular del ganglio o pasan a través de ella y salen por el vaso linfático eferente. El lado derecho de b) muestra la arteria y vena linfáticas y las vénulas poscapilares. Los linfocitos en la circulación pueden pasar al interior del ganglio desde las vénulas poscapilares por un proceso llamado extravasación (*recuadro*).

(fig. 2-17). La **pulpa roja** esplénica se integra con una red de sinusoides poblados por macrófagos y múltiples glóbulos rojos (eritrocitos) y unos cuantos linfocitos; es el sitio en que se destruyen y eliminan los glóbulos rojos viejos y defectuosos. Muchos de los macrófagos dentro de la pulpa roja contienen glóbulos rojos fagocitados o pigmentos de hierro de la hemoglobina degradada. La **pulpa blanca** esplénica rodea las ramas de la arteria esplénica y forma una **vaina linfoide periarteriolar** (**PALS**, del inglés *periarteriolar lymphoid sheath*), poblada en especial por linfocitos T. Los folículos linfoides primarios están unidos a dicha vaina. Estos folículos son ricos en células B y algunas de ellas contienen centros germinales. La **zona marginal**, localizada en sentido periférico a la PALS, está poblada por linfocitos y macrófagos.

Los antígenos y linfocitos de origen sanguíneo penetran en el bazo a través de la arteria esplénica, que desemboca en la zona marginal. En esta última las células dendríticas atrapan el antígeno y lo llevan hacia la PALS. Los linfocitos en la sangre también ingresan a senos de la zona marginal y migran a la vaina linfoide periarteriolar.

La activación inicial de células B y T se realiza en las PALS, ricas en células T. En este sitio, las células dendríticas capturan

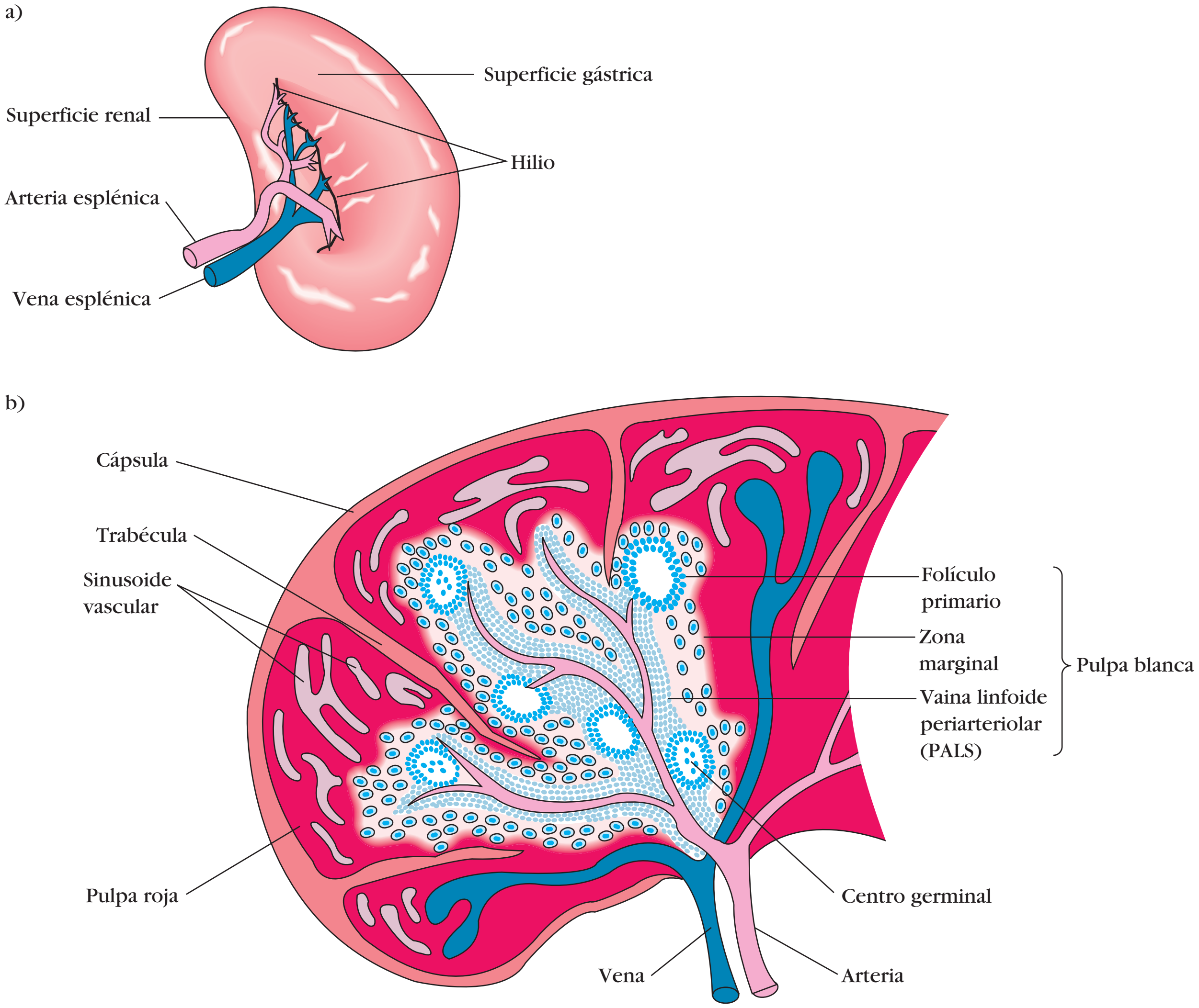


FIGURA 2-17 Estructura del bazo. a) El bazo, que tiene alrededor de 12.5 cm de largo en adultos, es el órgano linfoide secundario más grande. Se especializa en atrapar antígenos de origen sanguíneo. b) Diagrama de un corte transversal del bazo. La arteria esplénica perfora la cápsula y se divide en arteriolas cada vez más pequeñas, que terminan en sinusoides vasculares que drenan de nueva cuenta hacia la vena esplénica. Los sinusoides están rodeados de pulpa roja llena de eritrocitos. La pulpa blanca forma una manguito, la vaina linfoide periarteriolar (PALS), alrededor de las arteriolas; esta vaina contiene múltiples células T. Con la PALS se relaciona de modo estrecho la zona marginal, un área rica en células B que contiene folículos linfoides los cuales pueden desarrollarse hasta folículos secundarios que contienen centros germinales.

antígeno y lo presentan combinado con moléculas MHC clase II a las células T_H. Una vez activadas, estas células T_H pueden activar a su vez células B. Éstas, junto con algunas células T_H, se desplazan a continuación a los folículos primarios en la zona marginal. En caso de contacto antigénico, estos folículos primarios se convierten en los folículos secundarios característicos que contienen centros germinales (como los presentes en los ganglios linfáticos), donde las células B de división rápida (centroblastos) y las células plasmáticas están rodeadas por grupos densos de linfocitos dispuestos en forma concéntrica.

La gravedad de los efectos de la esplenectomía depende de la edad a la que se extirpa el bazo. En niños, la esplenectomía a menudo ocasiona aumento de la incidencia de sepsis bacteriana debida sobre todo a *Streptococcus pneumoniae, Neisseria meningitidis* y *Haemophilus influenzae.* La esplenectomía en adultos tiene efectos menos adversos, aunque provoca algún incremento de las infecciones bacterianas de origen sanguíneo (**bacteriemia**).

Tejido linfoide relacionado con mucosas

Las mucosas que recubren los aparatos digestivo, respiratorio y urogenital tienen un área de superficie combinada de unos 400 m^2 (casi el tamaño de una cancha de básquetbol) y son los principales sitios de entrada de la mayor parte de los agentes patógenos. Estas vulnerables membranas están defendidas por un grupo de tejidos linfoides organizados, que se mencionaron con anterioridad y que se conocen en conjunto como **tejido linfoide relacionado con mucosas (MALT)**. El tejido linfoide secundario relacionado con el epitelio respiratorio se denomina **tejido linfoide bronquial (BALT)**, y el vinculado con el epitelio

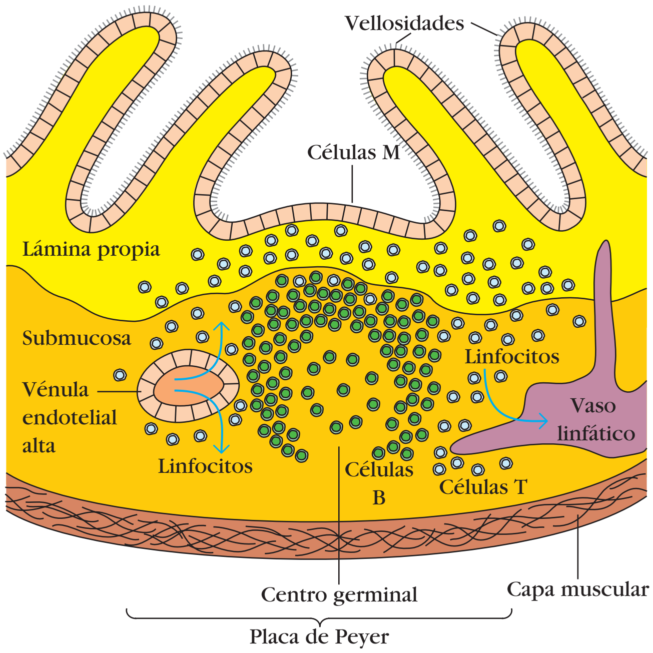

Vellosidades
Células M
Lámina propia
Submucosa
Vénula endotelial alta
Linfocitos
Linfocitos
Vaso linfático
Células B
Células T
Centro germinal
Capa muscular
Placa de Peyer

FIGURA 2-18 Diagrama de un corte transversal de la mucosa que recubre el intestino; se muestra un nódulo de folículos linfoides que constituyen una placa de Peyer en la submucosa. La lámina propia intestinal contiene grupos laxos de células linfoides y folículos difusos.

del tubo digestivo se llama de manera colectiva **tejido linfoide intestinal (GALT)**. Desde el punto de vista estructural, el MALT varía desde grupos laxos, apenas organizados de células linfoides en la lámina propia de vellosidades intestinales, hasta estructuras bien organizadas, como las placas de Peyer, que se encuentran dentro del recubrimiento intestinal. El MALT también incluye las amígdalas y el apéndice. Su importancia funcional en las defensas del cuerpo se comprueba por su población considerable de células plasmáticas que producen anticuerpo, cuya cifra excede con mucho a la de las células plasmáticas en el bazo, los ganglios linfáticos y la médula ósea combinados.

Como se muestra en las figuras 2-18 y 2-19, se hallan células linfoides en varias regiones dentro de ese tejido. La capa epitelial mucosa externa contiene los llamados **linfocitos intraepiteliales** (**IEL**, del inglés *intraepithelial lymphocytes*), muchos de los cuales son células T. La lámina propia, que yace bajo la capa epitelial, contiene gran número de células B, células plasmáticas, células T_H activadas y macrófagos en grupos laxos. Los cortes histológicos revelan más de 15 000 folículos linfoides dentro de la lámina propia intestinal de un niño sano. Las placas de Peyer, que son nódulos de 30 a 40 folículos linfoides, se extienden desde el subepitelio hasta las capas musculares. Al igual que los folículos linfoides de otros sitios, los que componen las placas de Peyer pueden convertirse en folículos secundarios con centros germinales.

Las células epiteliales de las mucosas poseen una función relevante para promover la respuesta inmunitaria al llevar muestras pequeñas de antígeno extraño desde la luz de las vías respiratorias, digestivas y urogenitales hasta el tejido linfoide relacionado con la mucosa subyacente. Este transporte de antígeno lo efectúan las **células M** especializadas. La estructura de la célula M es notable: se trata de células epiteliales aplanadas que carecen de las microvellosidades que caracterizan al resto del epitelio mucoso. Las células M tienen una invaginación profunda, o bolsa, en la membrana plasmática basolateral; esta bolsa está llena con un grupo de células B y T y macrófagos (fig. 2-19a). Los antígenos de la luz intestinal se desplazan por endocitosis hacia el interior de vesículas que son transportadas desde la membrana luminal (que limita la luz intestinal) hacia la

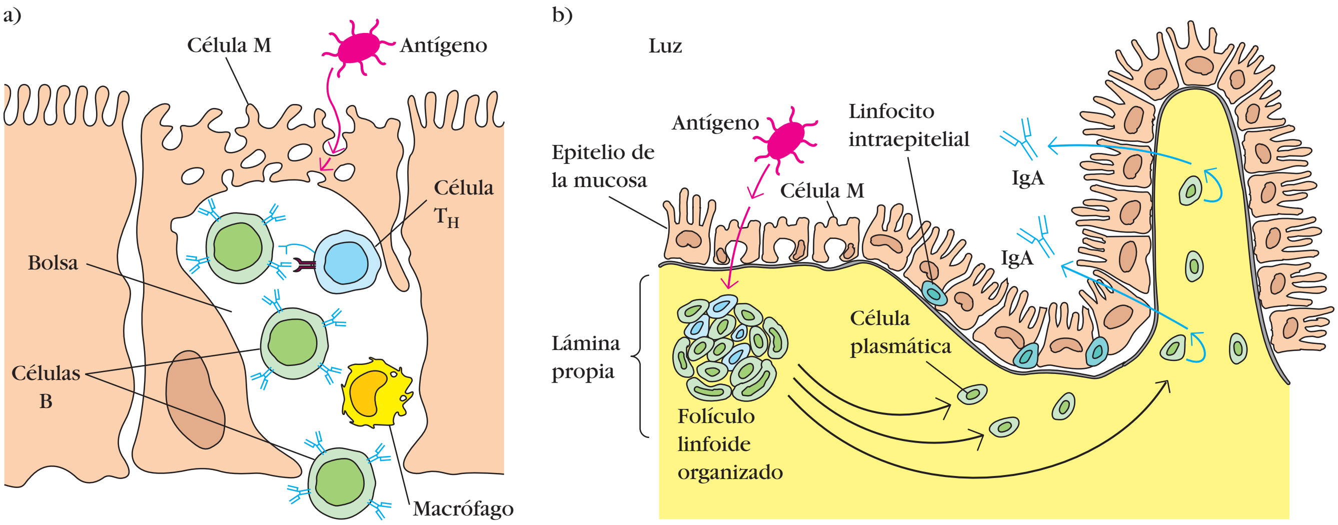

a)
Célula M
Antígeno
Célula T_H
Bolsa
Células B
Macrófago
b)
Luz
Antígeno
Linfocito intraepitelial
Epitelio de la mucosa
Célula M
IgA
IgA
Lámina propia
Célula plasmática
Folículo linfoide organizado

FIGURA 2-19 Estructura de células M y producción de IgA en sitios inductores. a) Las células M, localizadas en la mucosa, captan por endocitosis antígeno de la luz de los aparatos digestivo, respiratorio y urogenital. El antígeno se transporta a través de la célula y se elimina hacia la bolsa basolateral grande. b) El antígeno trasladado a través de la capa epitelial por células M en un sitio inductor activa células B en los folículos linfoides subyacentes. Las células B activadas se diferencian en células plasmáticas, que producen IgA, y migran a lo largo de las submucosas. La capa epitelial mucosa externa contiene linfocitos intraepiteliales, de los cuales muchos son células T.

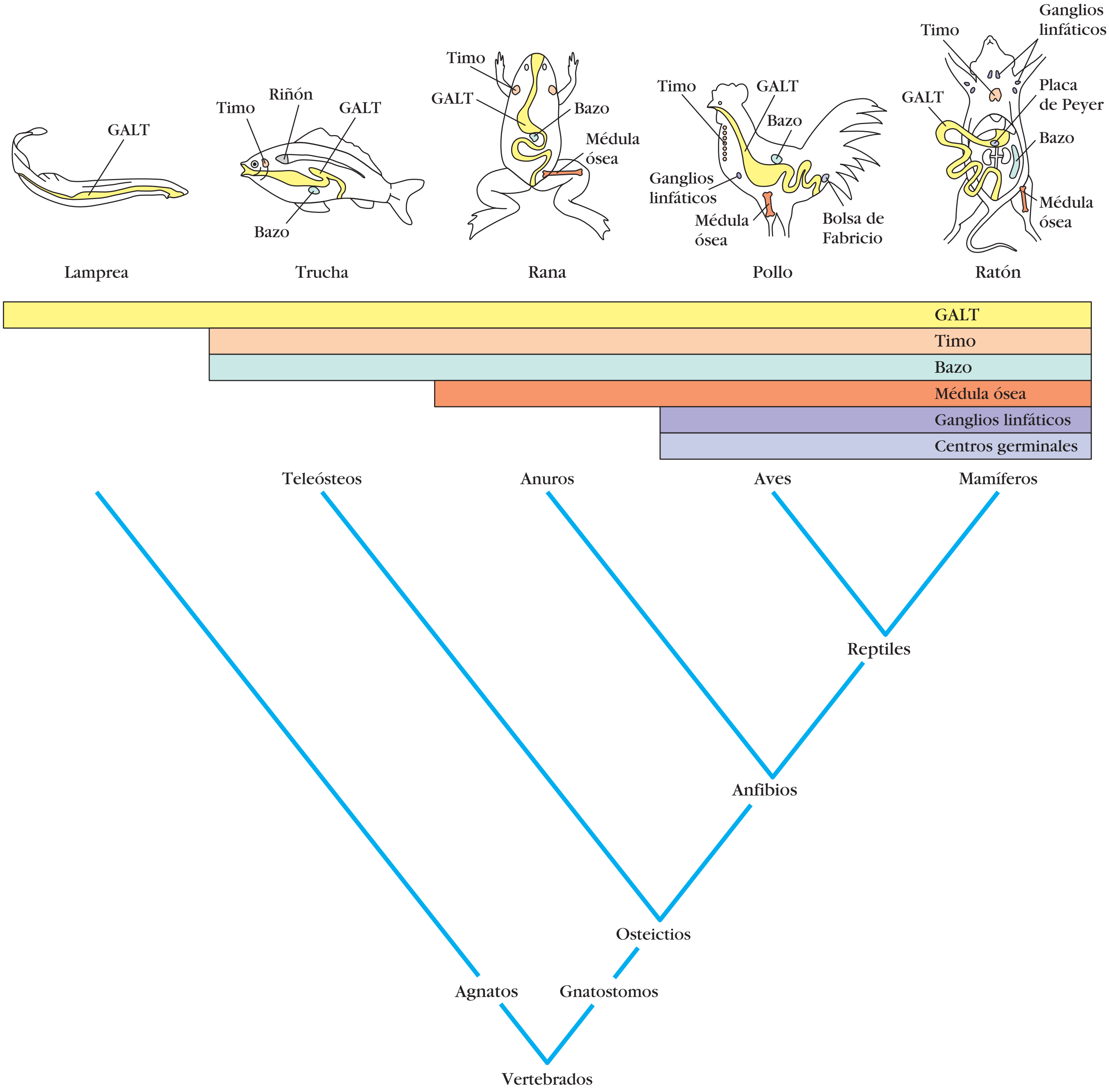

GALT
Lamprea
Timo
Riñón
GALT
Bazo
Trucha
Timo
GALT
Bazo
Médula ósea
Rana
Timo
GALT
Bazo
Ganglios linfáticos
Médula ósea
Bolsa de Fabricio
Pollo
Timo
Ganglios linfáticos
GALT
Placa de Peyer
Bazo
Médula ósea
Ratón
GALT
Timo
Bazo
Médula ósea
Ganglios linfáticos
Centros germinales
Teleósteos
Anuros
Aves
Mamíferos
Reptiles
Anfibios
Osteictios
Agnatos
Gnatostomos
Vertebrados

FIGURA 2-20 **Distribución evolutiva de los tejidos linfoides.** Se muestra la presencia y localización de tejidos linfoides en varios órdenes mayores de vertebrados. Aunque no se incluyen en el diagrama, los peces cartilaginosos, como los tiburones y las mantarrayas, tienen GALT, timo y bazo. Los reptiles poseen también GALT, timo y bazo y pueden tener asimismo ganglios linfáticos que participan en reacciones inmunitarias. Actualmente se investigan los sitios y la naturaleza de los tejidos linfoides primarios en los reptiles. *[Adaptada de Dupasquier y M. Flajnik, 2004, en* Fundamental Immunology, *5th ed., W.E. Paul, ed., Lippincott-Raven, Philadelphia.]*

membrana de la bolsa subyacente. A continuación las vesículas se fusionan con la membrana de la bolsa y llevan los antígenos (con el potencial de activar la respuesta) a los grupos de linfocitos y células presentadoras de antígeno contenidos dentro de la bolsa, los más importantes de los cuales son células dendríticas. Los antígenos que las células M trasladan a través de la mucosa en última instancia provocan la activación de células B, que se diferencian y secretan IgA. Esta clase de anticuerpos se especializa en la secreción y es un recurso importante del organismo para combatir muchos tipos de infección en mucosas.

Tejido linfoide cutáneo

La piel es una barrera anatómica importante contra el ambiente externo. Constituye el órgano más grande del cuerpo, y tiene un papel decisivo en las defensas inespecíficas (innatas). La capa epidérmica (externa) de la piel consta en mayor medida de células epiteliales especializadas llamadas queratinocitos, que secretan varias citocinas las cuales pueden actuar para inducir una reacción inflamatoria local. Diseminadas entre la matriz de células epiteliales de la epidermis se encuentran células de Langerhans, un tipo de célula dendrítica que internaliza antígeno por fagocitosis o endocitosis. Como ya se mencionó, las células de Langerhans maduran entonces y migran de la epidermis a los ganglios linfáticos regionales, donde actúan como activadores potentes de células T_H vírgenes. Además de células de Langerhans, la epidermis también contiene los llamados **linfocitos intraepidérmicos**, que son en su mayoría células T. Algunos inmunólogos consideran que participan en el combate de antígenos que ingresan a través de la piel, una función para la cual están bien ubicados. La capa dérmica subyacente de la piel también contiene células T y macrófagos diseminados. Al parecer, la mayor parte de estas células T dérmicas son células previamente activadas o células de memoria.

Células y órganos linfoides: comparaciones evolutivas

En el siguiente capítulo veremos que los sistemas innatos de inmunidad se encuentran en los vertebrados, los invertebrados e incluso en las plantas. La inmunidad adaptativa, que depende de linfocitos y es mediada por anticuerpos y células T, sólo surgió en el subfilum de los vertebrados. Sin embargo, como se muestra en la figura 2-20, los tipos de tejidos linfoides que se observan en diferentes órdenes de vertebrados difieren en grado muy notable.

A medida que se considera el espectro que va desde los vertebrados más tempranos —como los peces sin mandíbula (agnatos)— hasta las aves y los mamíferos, resulta evidente que la evolución ha añadido órganos y tejidos con funciones inmunitarias, como ganglios y tejidos linfáticos (p. ej., placas de Peyer), pero ha tendido a conservar los que surgieron en órdenes más tempranos (como el timo). Si bien todos los vertebrados tienen tejido linfoide intestinal (GALT) y la mayoría cuenta con alguna versión de un bazo y un timo, no todos poseen ganglios linfáticos, y muchos no producen linfocitos en la médula ósea. Las diferencias que se observan al nivel de órganos y tejidos también se reflejan en el nivel celular. Hasta la fecha no se han detectado linfocitos T o B ni otros componentes de un sistema inmunitario adaptativo en los peces sin mandíbula. De hecho, sólo los vertebrados con mandíbula (gnatostomos), de los cuales los peces cartilaginosos (tiburones, mantarrayas) son los ejemplos más primitivos, tienen linfocitos B y T y experimentan reacciones inmunitarias adaptativas.

RESUMEN

- Las respuestas humoral (por anticuerpos) y mediada por células del sistema inmunitario se deben a las actividades coordinadas de muchos tipos de células, órganos y tejidos distribuidos por todo el organismo.
- Gran parte de las células, tejidos y órganos del cuerpo provienen de la progenie de diferentes poblaciones de células madre. Los leucocitos se desarrollan a partir de una célula madre hematopoyética pluripotente durante un proceso altamente regulado que recibe el nombre de hematopoyesis.
- La apoptosis, un tipo de muerte celular programada, es un factor clave para regular las cantidades de células hematopoyéticas y de otras poblaciones celulares.
- Existen tres tipos de células linfoides: células B, T y asesinas naturales (NK). Sólo las células B y T son miembros de poblaciones clonales que se distinguen por tener receptores de antígeno de especificidad única. Las células B sintetizan y exhiben anticuerpo de membrana, y las células T sintetizan y exhiben receptores de célula T. La mayor parte de las células NK son incapaces de sintetizar receptores específicos de antígeno, aunque una pequeña subpoblación de ellas, las NK-T, sí sintetizan y exhiben un receptor de célula T.
- Los macrófagos y neutrófilos están especializados para la fagocitosis y degradación de antígenos. Los macrófagos también tienen la capacidad de presentar antígeno a las células T.
- Las formas inmaduras de las células dendríticas tienen la capacidad de capturar antígeno en un lugar, experimentar la maduración y migrar a otro sitio, donde presentan el antígeno a células T_H. Las células dendríticas son la principal población de células presentadoras de antígeno.
- Los órganos linfoides primarios son los sitios en que los linfocitos se desarrollan y maduran. Los linfocitos T se producen en la médula ósea y se desarrollan en el timo; en seres humanos y ratones, los linfocitos B surgen y se desarrollan dentro de la médula ósea.
- Los órganos linfoides secundarios son sitios en donde los linfocitos encuentran antígenos, se activan y experimentan expansión clonal y diferenciación en células efectoras.
- Los órdenes de vertebrados difieren mucho en cuanto a los tipos de órganos, tejidos y células linfoides que poseen. Los vertebrados más primitivos, los peces sin mandíbula, carecen de células B y T y no pueden montar respuestas inmunitarias adaptativas; los vertebrados con mandíbula tienen células B y T, poseen inmunidad adaptativa y exhiben mayor variedad de tejidos linfoides.

Bibliografía

Appelbaum, F. R. 1996. Hematopoietic stem cell transplantation. In *Scientific American Medicine*. D. Dale and D. Ferderman, eds. Scientific American Publishers, New York.

Banchereau J., et al. 2000. Immunobiology of dendritic cells. *Annual Review of Immunology* **18:**767.

Clevers, H. C., and R. Grosschedl. 1996. Transcriptional control of lymphoid development: lessons from gene targeting. *Immunology Today* **17:**336.

Cory, S. 1995. Regulation of lymphocyte survival by the BCL-2 gene family. *Annual Review of Immunology* **12:**513.

Ema, H., et al. 2005. Quantification of self-renewal capacity in single hematopoietic stem cells from normal and Lnk-deficient mice. *Developmental Cell* **6:**907.

Godfrey, D. I., MacDonald, H.R. Kronenberg, M., Smyth, M. J., and Van Kaer, L. (2004). NKT cells: What's in a name? *Nature Reviews Immunology* **4:**231.

Liu, Y. J. 2001. Dendritic cell subsets and lineages, and their functions in innate adaptive immunity. *Cell* **106:**259

Melchers, F., and A. Rolink. 1999. B-lymphocyte development and biology. In *Fundamental Immunology*, 4th ed. W. E. Paul, ed. Lippincott-Raven, Philadelphia, p. 183.

Nathan, C., and M. U. Shiloh. 2000. Reactive oxygen and nitrogen intermediates in the relationship between mammalian hosts and microbial pathogens. *Proceedings of The National Academy of Science* **97:**8841.

Pedersen, R. A. 1999. Embryonic stem cells for medicine. *Scientific American* **280:**68.

Osborne, B. A. 1996. Apoptosis and the maintenance of homeostasis in the immune system. *Current Opinion in Immunology* **8:**245.

Piccirillo, C. A., and E. M. Shevach. 2004. Naturally ocurring CD4+CD25+ immunoregulatory T cells: central players in the arena of peripheral tolerance. *Seminars in Immunology* **16:**18.

Picker, L. J., and M. H. Siegelman. 1999. Lymphoid tissues and organs. In *Fundamental Immunology*, 4th ed. W. E. Paul, ed. Lippincott-Raven, Philadelphia, p. 145.

Rothenberg, E. V. 2000. Stepwise specification of lymphocyte developmental lineages. *Current Opin. Gen. Dev.* **10:**370.

Shizuru, J. A., R. S. Negrin, and I. L. Weissman. 2005. Hematopoietic stem and progenitor cells: clinical and preclinical regeneration of the hematolymphoid system. *Annual Review of Medicine* **56:**509.

Ward, A. C., et al. 2000. Regulation of granulopoiesis by transcription factors and cytokine signals. *Leukemia* **14:**973.

Weissman, I. L. 2000. Translating stem and progenitor cell biology to the clinic: barriers and opportunities. *Science* **287:**1442.

Sitios útiles de la red

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/prow

Las guías PROW son revisiones autorizadas, breves y estructuradas acerca de proteínas y familias de proteínas; reúnen la información importante sobre cada molécula en un documento de formato estandarizado. Contienen información sobre CD1 a CD339.

http://stemcells.nih.gov/

Conexiones con fuentes de información básica y clínica sobre células madre, y registros de células madre embrionarias disponibles.

Preguntas de estudio

PREGUNTA DE ENFOQUE CLÍNICO Las células T y B que se diferencian de células madre hematopoyéticas reconocen como propios los cuerpos en que se diferencian. Considérese el siguiente ejemplo: una mujer dona HSC a un varón sin relación genética, cuyo sistema hematopoyético fue destruido por completo por una combinación de radiación y quimioterapia. Supóngase además que si bien la mayor parte de las HSC del donador se diferencian en células hematopoyéticas, algunas lo hacen en células de páncreas, hígado y corazón. Elija cuál de los siguientes resultados finales es probable y explique su elección.

a. Las células T procedentes de las HSC del donador no atacan a las células pancreáticas, cardíacas y hepáticas que surgieron de las células del donador, pero activan una respuesta de injerto contra hospedador (GVH, del inglés *graft versus host*) contra todas las otras células del hospedador.
b. Las células T procedentes de las HSC del donador montan una respuesta GVH contra todas las células del hospedador.
c. Las células T surgidas de las HSC del donador atacan a las células pancreáticas, cardíacas y hepáticas que surgieron de células del donador, pero no activan una reacción GVH contra todas las otras células del hospedador.
d. Las células T originadas de las HSC del donador no atacan a las células pancreáticas, cardíacas y hepáticas que surgieron de células del donador y no activan una respuesta GVH contra todas las otras células del hospedador.

1. Explique por qué son falsas las siguientes afirmaciones.

   a. Todas las células T_H expresan CD4 y sólo reconocen antígeno relacionado con moléculas MHC clase II.
   b. La célula madre pluripotente es uno de los tipos celulares que más abundan en la médula ósea.
   c. La activación de macrófagos incrementa su expresión de moléculas MHC clase I y hace que estas células presenten antígeno con mayor eficacia.
   d. Los folículos linfoides sólo se hallan en el bazo y los ganglios linfáticos.
   e. La infección no influye en el ritmo de hematopoyesis.
   f. Las células dendríticas foliculares pueden procesar y presentar antígeno a linfocitos T.
   g. Todas las células linfoides tienen receptores específicos de antígeno en su membrana.
   h. Todos los vertebrados generan linfocitos B en la médula ósea.
   i. Todos los vertebrados producen linfocitos B o T, y la mayoría produce ambos.

2. Para cada uno de los siguientes grupos de células, indique la última célula progenitora común que da origen a ambos tipos celulares.

   a. Células dendríticas y macrófagos
   b. Monocitos y neutrófilos
   c. Células TC y basófilos
   d. Células asesinas naturales y células B

3. Indique los órganos linfoides principales y resuma sus funciones en la reacción inmunitaria.

4. Señale los órganos linfoides secundarios y resuma sus funciones en la reacción inmunitaria.

5. ¿Cuáles son las dos principales características que distinguen las células madre hematopoyéticas de las células progenitoras?

6. ¿Cuáles son las dos funciones principales del timo?

7. ¿Qué tienen en común los ratones desnudos y los seres humanos con síndrome de DiGeorge?

8. ¿A qué edad llega el timo a su tamaño máximo?

   a. Durante el primer año de vida
   b. En los años de la adolescencia (pubertad)
   c. Entre los 40 y 50 años de edad
   d. Después de los 70 años de edad

9. Los preparados enriquecidos en células madre hematopoyéticas son útiles para la investigación y la práctica clínica. En el método de Weissman para enriquecer células madre hematopoyéticas, ¿por qué es necesario emplear ratones sometidos a radiación letal para demostrar el enriquecimiento?

10. Explique la diferencia entre un monocito y un macrófago.

11. ¿Qué efecto tendría en pollos la extirpación de la bolsa de Fabricio (bursectomía)?

12. Algunos microorganismos (p. ej., *Neisseria gonorrhoeae, Mycobacterium tuberculosis* y *Candida albicans*) se clasifican como patógenos intracelulares. Defina este término y explique por qué difiere la respuesta inmunitaria a estos patógenos de la de otros microorganismos como *Staphylococcus aureus* y *Streptococcus pneumoniae*.

13. Indique si cada una de las afirmaciones siguientes sobre el bazo es verdadera o falsa. Si considera que una afirmación es falsa, explique por qué.

    a. Filtra antígenos de la sangre.
    b. La zona marginal es rica en células T y la vaina linfoide periarteriolar (PALS) lo es en células B.
    c. Contiene centros germinales.
    d. Elimina glóbulos rojos viejos y defectuosos.
    e. Los vasos linfáticos que drenan los espacios tisulares penetran en el bazo.
    f. La función de los ganglios linfáticos, pero no del bazo, es afectada por la desactivación del gen Ikaros.

14. Para cada tipo de célula indicada (a-p), elija la descripción más apropiada (1-16) incluida enseguida. Cada descripción puede emplearse una vez, más de una vez o ninguna vez.

Tipos de células

a. ___________ Células progenitoras mieloides comunes

b. ___________ Monocitos

c. ___________ Eosinófilos

d. ___________ Células dendríticas

e. ___________ Células asesinas naturales (NK)

f. ___________ Células de Kupffer

g. ___________ Células dendríticas linfoides

h. ___________ Células cebadas

i. ___________ Neutrófilos

j. ___________ Células M

k. ___________ Células estromales de la médula ósea

l. ___________ Linfocitos

m. ___________ Células NK1-T

n. ___________ Células microgliales

o. ___________ Células dendríticas mieloides

p. ___________ Células madre hematopoyéticas

Descripciones

1) Principal tipo de célula que presenta antígeno a células T_H.

2) Célula fagocítica del sistema nervioso central.

3) Células fagocíticas importantes en la defensa del cuerpo contra microorganismos parásitos.

4) Macrófagos que se encuentran en el hígado.

5) Da origen a glóbulos rojos.

6) Una célula presentadora de antígeno derivada de monocitos que no es fagocítica.

7) Por lo general, la primera célula que llega al sitio de inflamación.

8) Secreta factores estimulantes de colonias (CSF).

9) Da origen a timocitos.

10) Células sanguíneas circulantes que se diferencian en macrófagos en los tejidos.

11) Una célula presentadora de antígeno que surge del mismo precursor que la célula T, pero no del mismo que el macrófago.

12) Células importantes en el muestreo de antígeno de la luz del intestino.

13) Células granulocíticas no fagocíticas que liberan varias sustancias con actividad farmacológica.

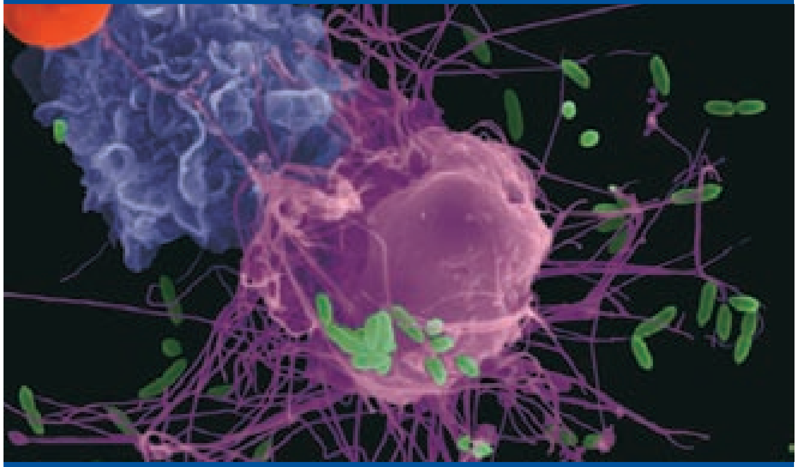
14) Glóbulos blancos que migran a los tejidos y tienen una función importante en el desarrollo de alergias.

15) Estas células reconocen en ocasiones sus blancos con ayuda de un receptor de superficie celular específico de antígeno y, algunas veces, por mecanismos similares a los de las células asesinas naturales.

16) Los miembros de las células de esta categoría no se encuentran en peces sin mandíbula.

capítulo 3

Inmunidad innata



Un macrófago (rosa) y un monocito (púrpura) capturan y fagocitan bacterias. [Dennis Kunkel Microscopy/Dennis Kunkel.]

- Barreras anatómicas
- Conexiones entre la inmunidad innata y la adaptativa
- Inflamación
- Moléculas solubles y receptores relacionados con membrana
- Receptores tipo Toll
- Tipos celulares de inmunidad innata
- Vías de transducción de señales
- Ubicuidad de la inmunidad innata

Los vertebrados son protegidos por dos sistemas de inmunidad: innata y adaptativa. La **inmunidad innata** consta de las defensas contra la infección que aun antes del ataque de un patógeno están listas para activarse de inmediato. El sistema de inmunidad innata incluye barreras físicas, químicas y celulares. Las principales barreras físicas son piel y membranas mucosas. Entre las barreras químicas se incluyen la acidez del contenido estomacal y moléculas solubles especializadas con actividad antimicrobiana. La línea celular de defensa innata comprende una serie de células con receptores sensibles que detectan productos microbianos e instigan un contraataque. La respuesta a la invasión por un microorganismo infeccioso que supera las barreras iniciales de piel y membranas mucosas es rápida; típicamente se inicia a los pocos minutos de la invasión.

A pesar de las múltiples capas del sistema innato, es posible que algunos patógenos logren evadir esas defensas. Por ello existe un segundo sistema, llamado de **inmunidad adaptativa** (o **inmunidad adquirida**), que es inducido por la exposición a microorganismos y combate la infección con una respuesta específica a la medida del patógeno atacante en la forma de una gran población de linfocitos B y T que de manera específica reconocen al invasor. Montar una respuesta adaptativa requiere tiempo: puede tardar hasta una semana o más antes de ser totalmente eficaz. La inmunidad adaptativa se caracteriza por el fenómeno de memoria inmunitaria, y una vez que es activada por un patógeno específico, exposiciones ulteriores a éste inducen respuestas más rápidas y a menudo más potentes. El reconocimiento de los invasores es mediado por anticuerpos y receptores de célula T, los “sensores” de la inmunidad adaptativa. Estas moléculas son producidas por genes con una característica extraordinaria: experimentan modificación y diversificación —recombinación genética— en el hospedador para generar una gigantesca población única de centinelas en busca de invasores. Los procesos de modificación y generación de diversidad inmunitaria se consideran en los capítulos 5 y 9.

La inmunidad innata es la defensa más antigua de los vertebrados contra los microorganismos; en todas las plantas y animales (organismos pluricelulares) se ha encontrado alguna forma de inmunidad innata. La inmunidad adaptativa surgió por evolución en los vertebrados con mandíbula y es un rasgo evolutivo mucho más reciente que la inmunidad innata. En los vertebrados, la inmunidad adaptativa complementa a un sistema bien desarrollado de inmunidad innata. En el cuadro 3-1 se comparan ambos sistemas.

Un acervo extenso y creciente de informes de investigación revela que a medida que han coevolucionado la inmunidad innata y la adaptativa, entre ambos sistemas ha surgido un alto grado de interacción e interdependencia. De hecho, si un patógeno evade por completo la primera línea de defensa, el sistema inmunitario innato, la respuesta del sistema adaptativo puede ser muy débil. El reconocimiento por el sistema inmunitario innato dispone el escenario para una inmunorreacción adaptativa eficaz.

En este capítulo se describen los componentes del sistema inmunitario innato: barreras físicas y fisiológicas, agentes químicos solubles, y varios tipos de células y sus receptores; asimismo se ilustra el modo en que actúan de manera conjunta para defender al organismo contra la infección. Se concluye con un panorama general de la inmunidad innata a través de los fila de animales y plantas.

CUADRO 3-1 Inmunidad innata y adaptativa

Atributo	Inmunidad innata	Inmunidad adaptativa
Tiempo de reacción	Minutos a horas	Días
Especificidad	Específica para moléculas y patrones moleculares de los patógenos	Altamente específica; incluso discrimina diferencias mínimas en la estructura molecular; reconoce detalles de la estructura microbiana o no microbiana con alta especificidad
Diversidad	Un número limitado de receptores codificados por la línea germinal	Altamente diversa; un número enorme de receptores que surgen por recombinación genética de los genes que codifican receptores
Respuestas de memoria	Ninguna	Memoria persistente; la respuesta a la infección ulterior es más rápida y de mayor magnitud
Discriminación entre lo propio y lo extraño	Perfecta; no hay patrones específicos de microorganismo en el hospedador	Muy buena; fallos ocasionales de la discriminación entre lo propio y lo extraño dan por resultado enfermedad autoinmunitaria
Componentes solubles de sangre o líquidos tisulares	Muchos péptidos y proteínas antimicrobianos	Anticuerpos
Principales tipos celulares	Fagocitos (monocitos, macrófagos, neutrófilos), células asesinas naturales (NK), células dendríticas	Linfocitos T y B, células presentadoras de antígeno

Barreras anatómicas

Los componentes más conspicuos de la inmunidad innata son las barreras externas contra la invasión microbiana: piel y membranas mucosas, que incluyen los epitelios mucosos que recubren las vías respiratorias, digestivas y urogenitales y aíslan el interior del cuerpo contra los patógenos del mundo exterior (fig. 3-1). La piel consta de dos capas bien definidas: una capa externa delgada, la **epidermis**, y una capa más gruesa, la **dermis**. La epidermis contiene varias filas de células epiteliales estrechamente empacadas. La capa epidérmica externa consta principalmente de células muertas llenas de una proteína hermética al agua llamada queratina. La dermis está constituida por tejido conectivo y contiene vasos sanguíneos, folículos pilosos, glándulas sebáceas y glándulas sudoríparas. La piel y los epitelios constituyen una especie de "cubierta plástica" viva que contiene y protege los dominios internos del cuerpo contra el mundo externo. Pero estas barreras anatómicas son más que simples envolturas pasivas. También montan defensas bioquímicas activas al sintetizar y desplegar péptidos y proteínas con actividad antimicrobiana. Entre la multitud de tales agentes producidos por la piel del ser humano la investigación reciente ha identificado la psoriasina, una pequeña proteína con potente actividad antibacteriana contra *Escherichia coli*. Este descubrimiento dio respuesta a la antigua pregunta de por qué la piel humana es resistente a la colonización por *E. coli* a pesar de la exposición constante a este microorganismo. Como se muestra en la figura 3-2, la incubación de *E. coli* sobre piel humana por tan sólo 30 min destruye específicamente esta bacteria. (En general otras especies bacterianas son menos sensibles.) La capacidad de la piel y los epitelios de producir una amplia variedad de agentes antimicrobianos es importante, porque las soluciones de continuidad en la piel a consecuencia de rasguños, punciones o abrasiones constituyen vías de infección que podrían ser fácilmente aprovechadas por microorganismos patógenos si no existieran las defensas bioquímicas. La piel también puede ser penetrada por mordeduras y picaduras de artrópodos (p. ej., mosquitos, ácaros, garrapatas, pulgas y moscas), capaces de introducir microorganismos patógenos en el cuerpo cuando se alimentan. Por ejemplo, el protozoario que causa el paludismo es depositado en el cuerpo humano por mosquitos hematófagos, y lo mismo ocurre en el caso del virus que causa la fiebre del Nilo Occidental. De modo similar, la bacteria de la peste bubónica es propagada por mordeduras de pulgas, y la bacteria que causa la enfermedad de Lyme es dispersada por la mordedura de garrapatas.

En vez de piel, las vías digestivas, respiratorias y urogenitales y los ojos están cubiertos de membranas mucosas que constan de una capa epitelial externa y una capa subyacente de tejido conectivo. Muchos patógenos ingresan en el cuerpo a través de estas membranas; a dicho ingreso se oponen varios mecanismos de defensa inespecíficos. Por ejemplo, la saliva, las lágrimas y las secreciones mucosas eliminan por lavado posibles invasores y asimismo contienen sustancias antibacterianas o antivíricas. El líquido viscoso llamado moco, que secretan células epiteliales de las mucosas, atrapa microorganismos extraños. En las vías respiratorias inferiores, la mucosa está recubierta por **cilios**, prolongaciones piliformes de las membranas de las células epiteliales. El movimiento sincrónico de los cilios expulsa de estas vías a los patógenos retenidos en el moco. Cada vez que nos alimentamos ingerimos enormes cantidades de microorganismos, pero éstos deben enfrentar una batería de defensas que comienzan con los compuestos antimicrobianos presentes en la saliva y el epitelio bucal y continúan con la mezcla hostil de ácido y enzimas digestivas del estómago. Además de la serie de defensas bioquímicas y anatómicas, los patógenos deben competir por los recursos del cuerpo con los muchos microorganismos no patógenos que colonizan las superficies mucosas. Esta *flora bacteriana normal*, altamente adaptada a su ambiente interno, suele excluir a los patógenos de la competencia por los sitios de fijación en la superficie de las células epiteliales y por los nutrimentos necesarios.

Algunos microorganismos han desarrollado formas de eludir las defensas de las mucosas. Por ejemplo, el virus de la gripe tie-

Órgano o tejido	Mecanismos innatos que protegen piel y epitelios
Piel	Péptidos antimicrobianos, ácidos grasos en el sebo
Boca y parte superior del tubo digestivo	Enzimas, péptidos antimicrobianos y desprendimiento de la superficie por flujo direccional de líquido hacia el estómago
Estómago	Bajo pH, enzimas digestivas, péptidos antimicrobianos, flujo de líquido hacia el intestino
Intestino delgado	Enzimas digestivas, péptidos antimicrobianos, flujo de líquido hacia el intestino grueso
Intestino grueso	Competencia de la flora intestinal normal con los microorganismos invasores, expulsión de líquido y heces por el recto
Vías respiratorias y pulmones	Barrido de moco por los cilios hacia fuera, expulsión de moco por la tos, macrófagos en alvéolos pulmonares

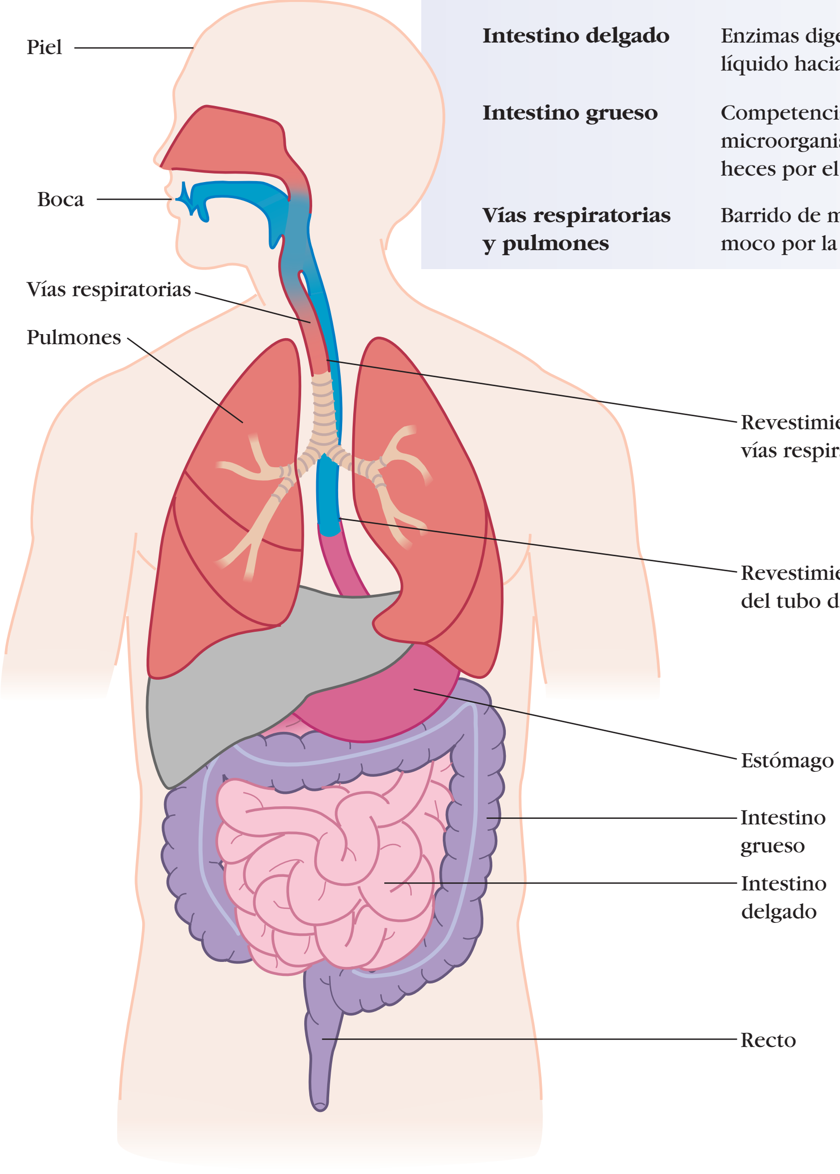

Piel
Boca
Vías respiratorias
Pulmones
Revestimiento epitelial de vías respiratorias y pulmones
Revestimiento epitelial del tubo digestivo
Estómago
Intestino grueso
Intestino delgado
Recto

FIGURA 3-1 Piel y barreras epiteliales contra la infección. La piel y las capas epiteliales mucosas son protegidas contra la colonización microbiana por una variedad de mecanismos: químicos (enzimas, péptidos antimicrobianos, pH), mecánicos (cilios, flujo de líquido) y celulares (macrófagos alveolares).

ne una molécula de superficie que le permite fijarse con firmeza a las células de las mucosas de las vías respiratorias e impide que las células epiteliales ciliadas eliminen el virus. De igual forma, el patógeno que causa la gonorrea tiene proyecciones de superficie con las que se une a células epiteliales en las mucosas de las vías urogenitales. La adherencia de las bacterias a mucosas se debe a interacciones entre las salientes piliformes en una bacteria, llamadas **fimbrias** o **pilos**, y ciertas glucoproteínas o glucolípidos que sólo son expresados por células epiteliales de las mucosas de determinados tejidos (fig. 3-3). Por éstas y otras razones, algunos tejidos son susceptibles a la invasión por patógenos específicos, a pesar de la eficacia general de las barreras epiteliales protectoras. Cuando esto sucede, los receptores de la inmunidad innata tienen papeles fundamentales para detectar la infección y desencadenar una defensa eficaz contra ella.

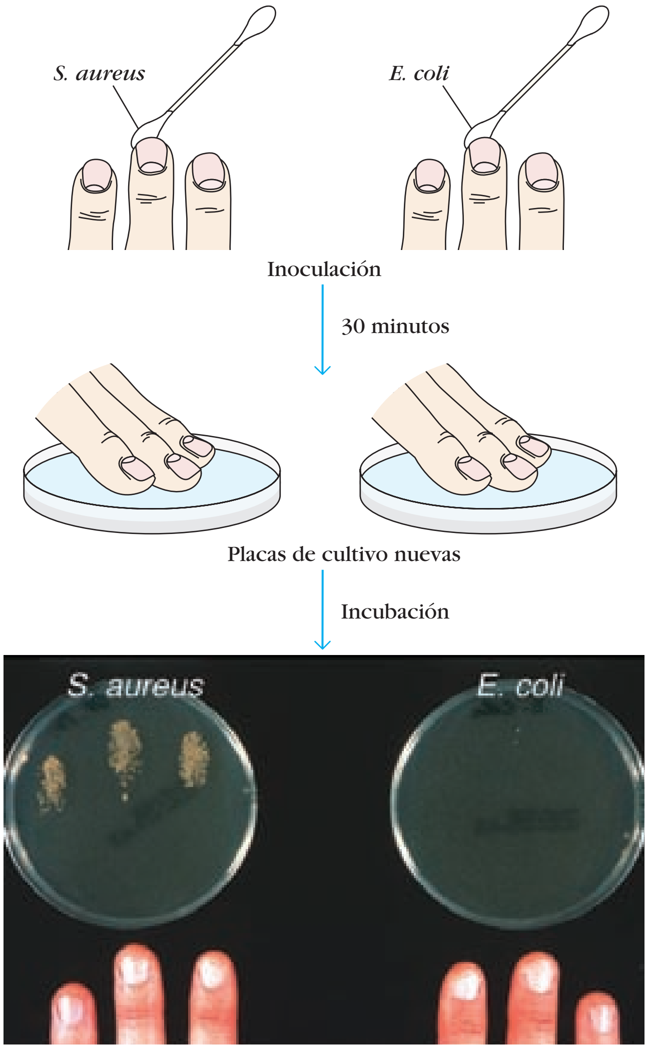


FIGURA 3-2 Las psoriasinas impiden la colonización de la piel por *E. coli*. La piel secreta psoriasina, una proteína antimicrobiana que destruye a *E. coli*. Las yemas de los dedos de una persona sana se inocularon con *Staphylococcus aureus* y *E. coli*. Luego de 30 min, las yemas de los dedos se presionaron contra una placa de agar nutritivo y se determinó el número de colonias de *S. aureus* y *E. coli*. Casi todos los *E. coli* que se inocularon habían sido destruidos; la mayoría de los *S. aureus* sobrevivió. *[Fotografía cortesía de* Nature Immunology*; tomada de Gläser et al., 2005,* Nature Immunology ***6****:57-64.]*

Conexiones entre la inmunidad innata y la adaptativa

Una vez que un patógeno supera las barreras anatómicas y fisiológicas inespecíficas del hospedador, es posible que cause infección y enfermedad. El sistema inmunitario reacciona a la invasión con dos funciones críticas: detecta al invasor por medio de sensores, y lo ataca con un elaborado mecanismo de respuesta. El primer fenómeno de detección del sistema inmunitario ocurre cuando el invasor interactúa con moléculas solubles o unidas a membrana del hospedador capaces de discriminar entre lo propio (el hospedador) y lo extraño (el patógeno). Estos sensores moleculares reconocen motivos estructurales generales con alto grado de conservación dentro de una especie microbiana (y que suelen ser necesarios para la supervivencia) pero que comúnmente están ausentes en el hospedador. Dado que reconocen patrones moleculares generales específicos, tales moléculas se denominan **receptores de reconocimiento de patrón** (**PRR**, del inglés *pattern recognition receptors*), y cuando tales patrones se detectan en los patógenos, se les denomina **patrones moleculares relacionados con patógeno** (**PAMP**, del inglés *pathogen-associated molecular patterns*). Entre los PAMP reconocidos por PRR se incluyen combinaciones de azúcares, determinadas proteínas, moléculas portadoras de lípidos específicos, y algunos motivos (estructuras repetitivas) de ácidos nucleicos. La restricción del reconocimiento innato a patrones moleculares presentes en los microorganismos hace que el sistema innato se concentre en entidades que pueden causar infección más que en sustancias que simplemente son ajenas, como una articulación artificial de cadera. En contraste, los anticuerpos y receptores de célula T, los sensores de la inmunidad adaptativa, reconocen detalles más finos de la estructura molecular y son capaces de discriminar con minuciosa especificidad entre antígenos que presentan sólo diferencias estructurales ligeras. Típicamente, la capacidad de los PRR de distinguir entre lo propio y lo extraño es a prueba de errores, porque el patrón molecular al que se dirige el receptor sólo es producido por el patógeno y nunca por el hospedador. Esto contrasta claramente con el reconocimiento ocasional de antígenos propios por receptores de la inmunidad adaptativa, una disfunción potencialmente peligrosa que puede ser el origen de una enfermedad autoinmunitaria.

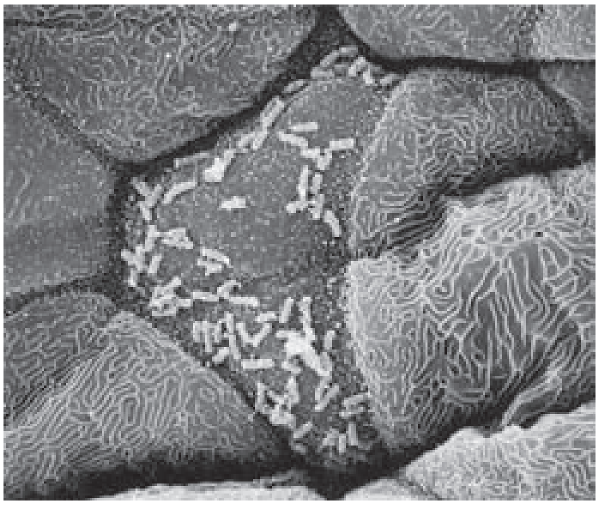
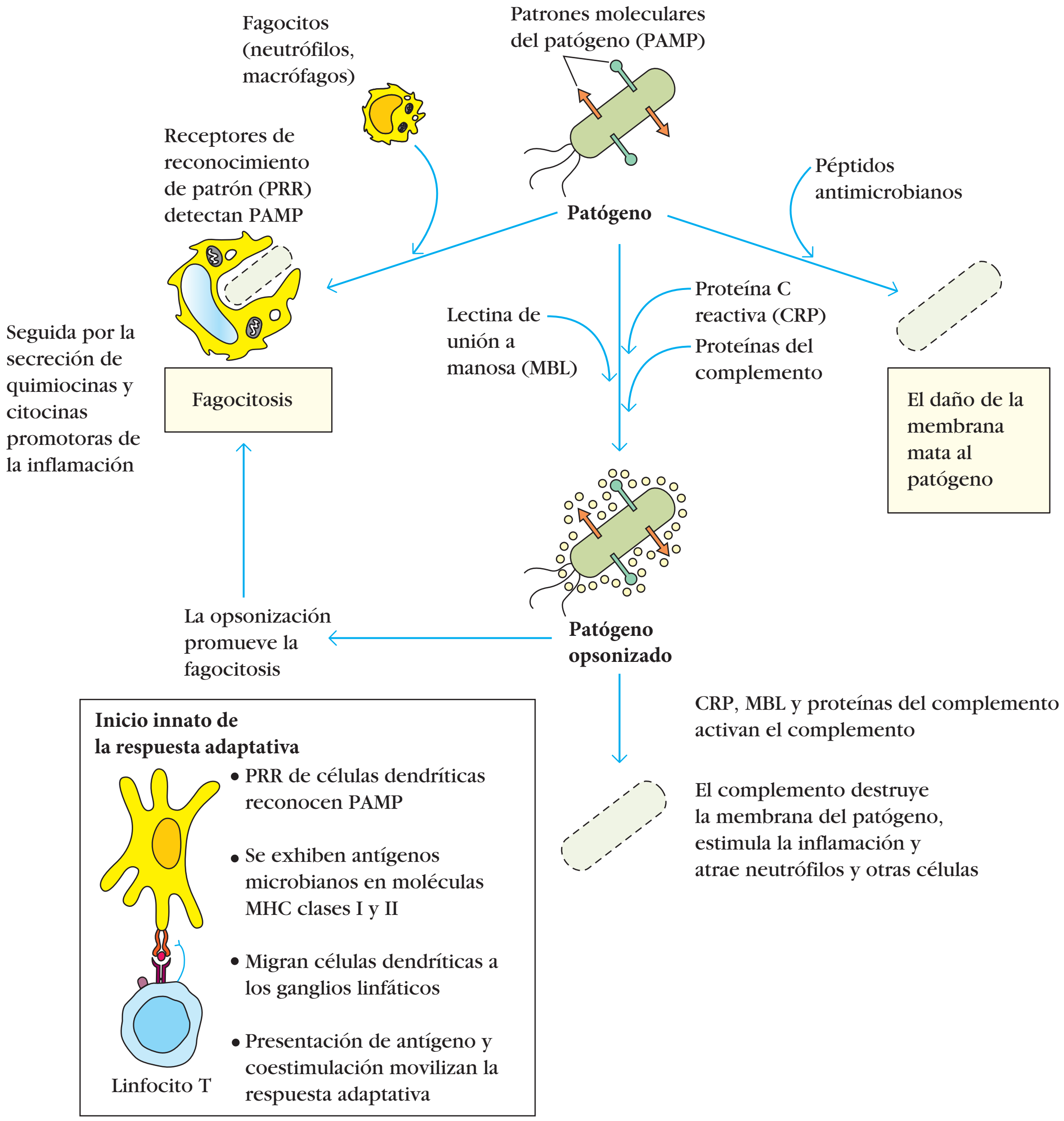


FIGURA 3-3 Micrografía electrónica de bacterias *Escherichia coli* en forma de bastón adheridas a la superficie de células epiteliales de las vías urinarias. *[Tomada de N. Sharon y H. Lis, 1993,* Scientific American ***268(1)****:85; cortesía de K. Fujita.]*

En la inmunidad innata, la detección de patrones moleculares relacionados con patógeno realizada por mediadores solubles y unidos a membrana pone en juego múltiples componentes inmunitarios. Entre los mediadores solubles se incluyen iniciadores del **sistema del complemento**, como **lectina de unión a manosa** (**MBL**, del inglés *mannose-binding lectin*) y **proteína C reactiva** (**CRP**, del inglés *C-reactive protein*). Si el patógeno

FIGURA 3-4 PARA VISUALIZACIÓN DE CONCEPTOS: Efectores de las inmunorreacciones innatas a la infección


Fagocitos
(neutrófilos,
macrófagos)
Patrones moleculares
del patógeno (PAMP)
Receptores de
reconocimiento
de patrón (PRR)
detectan PAMP
Patógeno
Péptidos
antimicrobianos
Lectina de
unión a
manosa (MBL)
Proteína C
reactiva (CRP)
Proteínas del
complemento
Seguida por la
secreción de
quimiocinas y
citocinas
promotoras de
la inflamación
Fagocitosis
El daño de la
membrana
mata al
patógeno
La opsonización
promueve la
fagocitosis
Patógeno
opsonizado
CRP, MBL y proteínas del complemento
activan el complemento
El complemento destruye
la membrana del patógeno,
estimula la inflamación y
atrae neutrófilos y otras células
Inicio innato de
la respuesta adaptativa
• PRR de células dendríticas reconocen PAMP
• Se exhiben antígenos microbianos en moléculas MHC clases I y II
• Migran células dendríticas a los ganglios linfáticos
• Presentación de antígeno y coestimulación movilizan la respuesta adaptativa
Linfocito T

La invasión microbiana pone en acción muchos efectores de la inmunidad innata. El ingreso de invasores microbianos a través de lesiones en las barreras epiteliales genera señales inflamatorias y expone a los invasores al ataque de diferentes moléculas y células efectoras. Los microorganismos que la proteína C reactiva (CRP) o la lectina de unión a manosa (MBL) reconocen son capturados por estas moléculas de opsonización y activación del complemento. Algunos patógenos, como los hongos portadores de zimosán, pueden activar el complemento, con el resultado de lisis u opsonización directa, lo cual marca al patógeno para la fagocitosis por neutrófilos o macrófagos. Las señales inflamatorias hacen que fagocitos como macrófagos y neutrófilos se unan a las paredes de los vasos sanguíneos, experimenten extravasación y se desplacen a los sitios de infección, donde fagocitan y destruyen microorganismos infectantes. Durante la acción de estos efectores celulares y moleculares se generan señales inflamatorias adicionales que intensifican la respuesta al atraer más fagocitos y mediadores solubles (CRP, MBL y complemento) desde el torrente sanguíneo hasta el sitio de la infección. Las células dendríticas internalizan componentes microbianos, maduran y presentan péptidos microbianos en moléculas MHC. Las células dendríticas migran entonces a través de los vasos linfáticos a ganglios linfáticos cercanos, donde presentan antígeno a las células T. Los linfocitos T activados por antígeno inician entonces inmunorreacciones adaptativas contra el patógeno. Las citocinas producidas durante las inmunorreacciones innatas también sostienen y dirigen las inmunorreacciones adaptativas contra la infección.

porta PAMP que son reconocidos por estos mediadores, se activará el sistema del complemento (cap. 7). Una parte de dicho sistema es un grupo de proteínas que, cuando se activan, forman agregados los cuales hacen agujeros en las membranas celulares de los microorganismos contra los que se dirigen, a los que dan muerte por lisis. El sistema del complemento también incluye glucoproteínas séricas que, cuando son activadas, promueven la captación de microorganismos por fagocitos (opsonización). El sistema del complemento ocupa una posición intermedia entre los sistemas inmunitarios innato y adaptativo: la cascada del complemento, que desemboca en la opsonización o lisis de los invasores, puede ser activada por moléculas que reconocen PAMP (inmunidad innata) o por anticuerpos (inmunidad adaptativa) que se unen a antígenos extraños específicos. Además, algunos de los subproductos de la activación del complemento promueven la inflamación y por tanto llevan leucocitos al sitio de infección, con lo que lanzan otro nivel de respuesta.

Células dendríticas inmaduras y macrófagos del tejido invadido tienen diversos receptores, entre ellos el grupo más importante de receptores innatos descubiertos a la fecha: los receptores tipo Toll (TLR, del inglés *Toll-like receptors*), que detectan productos microbianos. Hasta la fecha se han descrito 12 de tales receptores en el ratón y 11 en el ser humano; cada TLR reacciona con un producto microbiano específico. Estos receptores versátiles, que se describen en detalle en una sección posterior, hacen posible que células dendríticas y macrófagos detecten un amplio espectro de patógenos. Las señales iniciadas en los TLR de los macrófagos estimulan la actividad fagocítica y la producción de agentes químicos que resultan tóxicos para los microorganismos fagocitados. Los macrófagos activados también secretan una clase de moléculas conocidas como **citocinas**, proteínas parecidas a hormonas o factores de crecimiento que se comunican vía receptores celulares para inducir actividades celulares específicas (cap. 12). Como las hormonas, las citocinas modifican el comportamiento y la fisiología de células y tejidos que constituyen objetivos de ataque ("blancos"). Por ejemplo, los macrófagos activados secretan citocinas como interleucina 1 (IL-1), interleucina 6 (IL-6) y factor de necrosis tumoral α (TNF-α, del inglés *tumor necrosis factor alpha*), que inducen y sustentan reacciones inflamatorias.

Las células dendríticas inmaduras presentes en el sitio de infección internalizan y procesan el antígeno, maduran, y migran al tejido linfoide, donde su presentación de antígeno a las células T es el paso clave en el inicio de una inmunorreacción adaptativa a la invasión por patógenos. Por tanto, esta actividad es un puente entre los sistemas de inmunidad innata y adaptativa. Las células dendríticas también secretan una variedad de citocinas que promueven la inflamación y ayudan a dirigir la inmunorreacción adaptativa del hospedador.

Todas las funciones inmunitarias innatas ocurren en una fase temprana de la infección, antes de que se generen poblaciones significativas de linfocitos T específicos de patógeno y anticuerpos de células B específicos de patógeno. Sin embargo, las citocinas liberadas de células que participan en la respuesta innata modifican la naturaleza de las inmunorreacciones adaptativas ulteriores a la infección. En la figura 3-4 se resumen los principales efectores moleculares y celulares utilizados por el sistema inmunitario innato para atacar la infección. En muchos casos, el inmunosistema es capaz de vencer y eliminar una infección por sí solo. En caso contrario, el patógeno enfrenta el ataque coordinado del sistema inmunitario adaptativo. Durante la respuesta adaptativa, las células T citotóxicas detectan y destruyen patógenos que acechan en las células del hospedador, y los anticuerpos neutralizan la capacidad del invasor de infectar otras células al tiempo que elevan la probabilidad de que el invasor sea fagocitado por macrófagos y neutrófilos (captación mediada por anticuerpo, un tipo de opsonización). Los anticuerpos también colaboran con el sistema del complemento para producir la lisis de los microorganismos patógenos. Luego de que se elimina la infección, algunas de las células B y T generadas durante la fase adaptativa de la respuesta persistirán en el hospedador largos períodos en la forma de células B y T de memoria. Infecciones ulteriores por el mismo patógeno se toparán con una reserva de linfocitos específicos para él, capaz de montar una respuesta rápida.

Este esbozo somero presenta los principales elementos del sistema inmunitario innato y su relación con el sistema adaptativo. En el resto del capítulo se describen con más detalle los componentes y mecanismos de la inmunidad innata.

Inflamación

Cuando los patógenos superan las barreras externas de la inmunidad innata —piel y mucosas—, la infección o lesión tisular resultante puede inducir una compleja cascada de fenómenos conocida como **reacción inflamatoria**. La inflamación puede ser aguda, por ejemplo en respuesta al daño tisular, o crónica, con consecuencias patológicas como artritis y la emaciación vinculada con determinados cánceres (cap. 13). La reacción inflamatoria aguda combate las primeras fases de una infección y pone en marcha procesos que llevan a la reparación del tejido dañado. Las características básicas de una reacción inflamatoria localizada fueron descritas por primera vez por los romanos hace casi 2 000 años: tumefacción (del latín *tumor*), enrojecimiento (*rubor*), calor y dolor. En el siglo II DC el médico Galeno añadió otra característica de la inflamación, la pérdida de la función (*functio laesa*). Minutos después de la lesión tisular aumenta el diámetro de los vasos sanguíneos (vasodilatación), de lo que resulta un incremento del volumen sanguíneo en la zona. Un mayor volumen de sangre calienta el tejido y lo hace enrojecerse. También se eleva la permeabilidad vascular, lo que ocasiona escape de líquido desde los vasos sanguíneos, en particular en las vénulas poscapilares. Esto da por resultado la acumulación de líquido (**edema**) que expande el tejido. En pocas horas, en la región inflamada se adhieren leucocitos a las células endoteliales y atraviesan las paredes de los capilares para ingresar en los espacios tisulares, un proceso llamado **extravasación** (fig. 3-5). Estos leucocitos fagocitan patógenos invasores y liberan mediadores moleculares que contribuyen a la reacción inflamatoria y al reclutamiento y la activación de células efectoras.

Entre los mediadores se encuentran proteínas reguladoras de bajo peso molecular de la familia de las citocinas mencionadas antes. Las citocinas son secretadas por glóbulos blancos y varias otras células del cuerpo en respuesta a estímulos, y tienen papeles importantes en la regulación del desarrollo y el comportamiento de las células efectoras inmunitarias. Las **quimiocinas** (cap. 13) son un subconjunto importante de citocinas cuya característica distintiva es su capacidad de actuar como **quimioatrayentes**

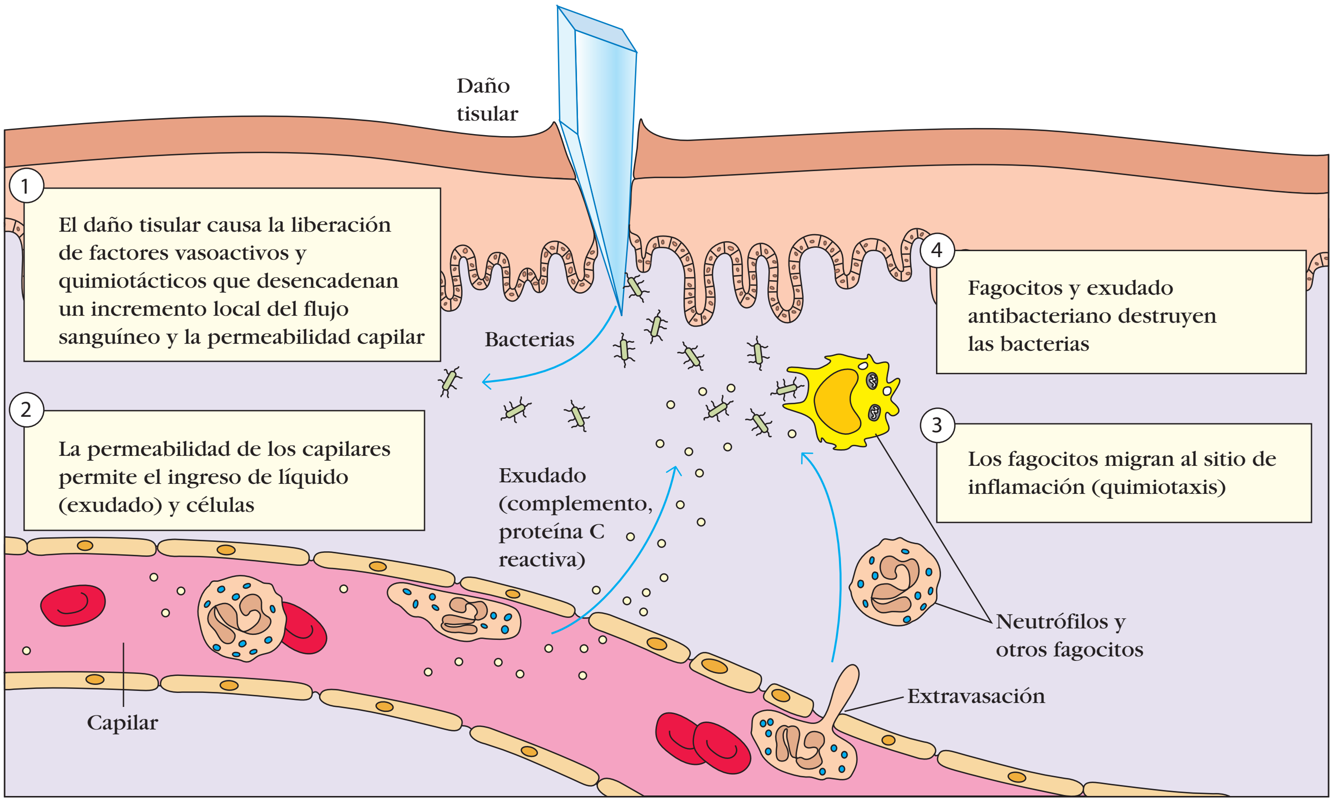

Daño tisular
1
El daño tisular causa la liberación de factores vasoactivos y quimiotácticos que desencadenan un incremento local del flujo sanguíneo y la permeabilidad capilar
2
La permeabilidad de los capilares permite el ingreso de líquido (exudado) y células
Bacterias
Exudado (complemento, proteína C reactiva)
4
Fagocitos y exudado antibacteriano destruyen las bacterias
3
Los fagocitos migran al sitio de inflamación (quimiotaxis)
Neutrófilos y otros fagocitos
Extravasación
Capilar

FIGURA 3-5 Reclutamiento de macrófagos y agentes antimicrobianos en el torrente sanguíneo. El ingreso de bacterias a través de heridas inicia una reacción inflamatoria que lleva sustancias antimicrobianas y fagocitos (primero neutrófilos y luego macrófagos y monocitos) al sitio de infección.

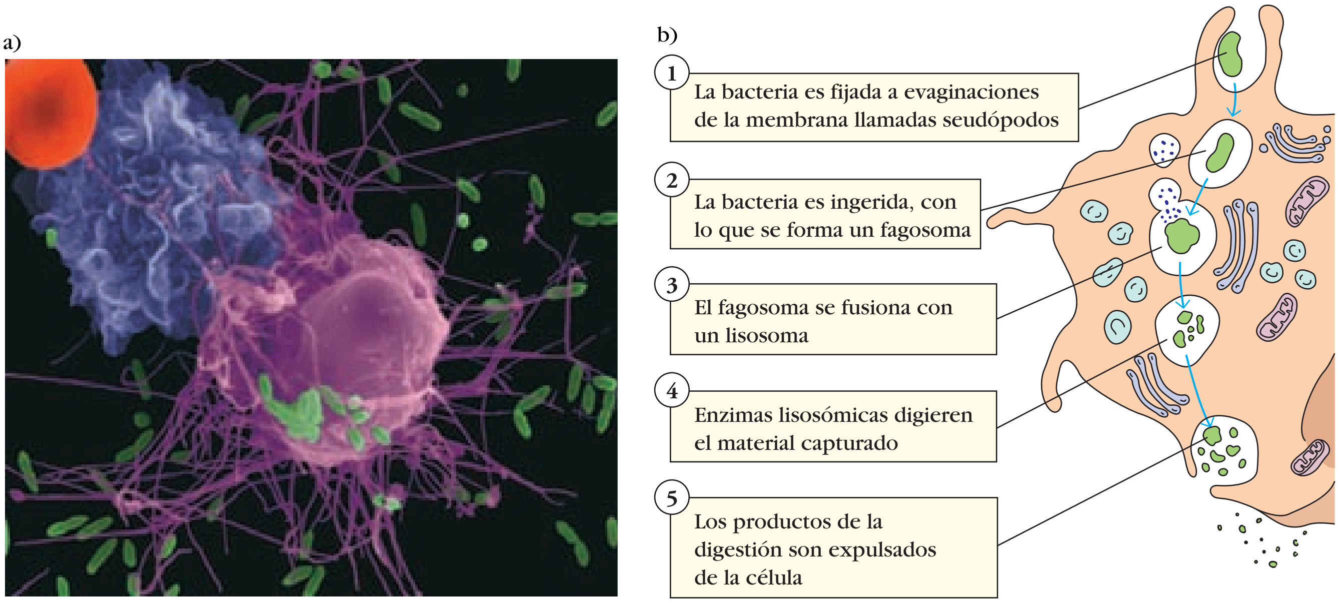

a)
b)
1
La bacteria es fijada a evaginaciones de la membrana llamadas seudópodos
2
La bacteria es ingerida, con lo que se forma un fagosoma
3
El fagosoma se fusiona con un lisosoma
4
Enzimas lisosómicas digieren el material capturado
5
Los productos de la digestión son expulsados de la célula

FIGURA 3-6 a) Micrografía electrónica de un macrófago (centro, rosa) al atacar a *Escherichia coli* (verde). Las bacterias son fagocitadas como se describe en la parte b), y se secretan productos de la destrucción. El monocito (púrpura, izquierda arriba) ha sido reclutado y llevado a la proximidad por factores solubles que el macrófago secreta. La esfera roja es un eritrocito. b), Etapas de la fagocitosis de una bacteria. *[Parte a, Dennis Kunkel Microscopy/Dennis Kunkel.]*

(agentes que hacen que las células se desplacen hacia los sitios en que esos agentes se encuentran en mayores concentraciones). Sin embargo, no todos los quimioatrayentes son quimiocinas. Otros quimioatrayentes importantes son los subproductos del complemento (C5a, C3a) y diversos péptidos *N*-formilo producidos por la degradación de proteínas bacterianas durante una infección. La unión de quimiocinas u otros quimioatrayentes a receptores en la membrana de las células neutrofílicas desencadena una señal activadora que induce un cambio conformacional en una molécula de la membrana del neutrófilo llamada **integrina**, lo que incrementa su afinidad por **moléculas de adhesión intercelular** (**ICAM**, del inglés *intercellular adhesion molecules*) presentes en el endotelio. Aunque existen muchos quimioatrayentes distintos, las quimiocinas son los reguladores más importantes y versátiles del tráfico de leucocitos, ya que controlan de manera selectiva la adhesión, la quimiotaxis y la activación de diversas subpoblaciones leucocitarias. Las quimiocinas inflamatorias suelen ser inducidas en respuesta a infección o a **citocinas proinflamatorias** (que promueven la inflamación). Las quimiocinas hacen que los leucocitos ingresen en diversos sitios tisulares al inducir la adhesión de dichas células al endotelio vascular que recubre las paredes de los vasos sanguíneos. Después de la entrada en los tejidos, los leucocitos se desplazan por quimiotaxis hacia las mayores concentraciones localizadas de quimiocinas en el sitio de la infección. De este modo, los fagocitos dirigidos y las poblaciones de linfocitos efectores son atraídos hacia el foco de inflamación.

Una función importante de las células atraídas al sitio inflamado es la fagocitosis de los microorganismos invasores. Elie Metchnikoff describió el proceso de la fagocitosis en el decenio de 1880 y le atribuyó un papel importante en la inmunidad. Formuló la hipótesis de que los leucocitos que engullen y destruyen patógenos eran los principales efectores de la inmunidad, más decisivos, según él, que las defensas mediadas por componentes séricos (anticuerpos). Metchnikoff acertó al atribuir una función decisiva al proceso de la fagocitosis, y ahora sabemos que la falta de esta función causa inmunodeficiencia grave. El proceso general de la fagocitosis de bacterias se muestra en la figura 3-6. El microorganismo es engullido y lisado dentro del macrófago, y los productos de la lisis se secretan. Entre estos productos se incluyen moléculas que portan PAMP, lo cual alerta a los receptores celulares sobre la presencia del patógeno. La reunión de leucocitos en sitios de infección, orquestada por quimiocinas, es una fase esencial de la respuesta enfocada a la infección.

Por último, algunas señales generadas en sitios de inflamación son llevadas de manera sistemática a otras partes del cuerpo, donde inducen cambios que apoyan la inmunorreacción innata (lo cual se expone más adelante, en la sección que aborda la reacción de fase aguda).

La extravasación leucocitaria es un proceso altamente regulado de múltiples pasos

El proceso estrechamente regulado de la extravasación es el responsable de que los leucocitos migren del torrente sanguíneo a los sitios de infección. Conforme se desarrolla una respuesta inflamatoria, diversas citocinas y otros mediadores inflamatorios actúan en el endotelio de los vasos sanguíneos locales, induciendo una mayor expresión de **moléculas de adhesión celular** (**CAM**, del inglés *cell adhesion molecules*). Se dice entonces que el epitelio afectado se inflama o activa. Dado que suelen ser neutrófilos el primer tipo celular en unirse al endotelio inflamado y extravasarse a los tejidos, la exposición aquí se concentrará en su ingreso, teniendo presente que otros leucocitos utilizan mecanismos similares. La extravasación impone al neutrófilo desafíos formidables. Primero, debe reconocer el endotelio inflamado; debe adherirse fuertemente de modo que no sea barrido por el flujo de sangre; y mientras se aferra a la pared del vaso, debe penetrar la capa endotelial y acceder al tejido subyacente.

La extravasación de neutrófilos puede dividirse en cuatro pasos: a) rodamiento, b) activación por estímulo quimioatrayente, c) detención y adhesión y d) migración transendotelial (fig. 3-7a). En el primer paso, los neutrófilos se fijan laxamente al endotelio mediante interacción de baja afinidad entre glucoproteínas —mucinas en los neutrófilos, selectinas en las células endoteliales— (fig. 3-7b). En ausencia de señales adicionales, las débiles interacciones que unen el neutrófilo a la célula endotelial son interrumpidas con rapidez por fuerzas cortantes cuando la sangre circulante fluye alrededor de la célula. A medida que las distintas regiones de la superficie del neutrófilo se unen y desprenden, el neutrófilo gira dando tumbos sobre la superficie del endotelio.

Mientras el neutrófilo rueda sobre el endotelio, es posible que encuentre quimiocinas u otros quimioatrayentes que se han producido en el sitio de un proceso inflamatorio. La ulterior interacción entre integrinas y ICAM estabiliza la adhesión del neutrófilo a la célula endotelial, lo que permite a aquél abrirse paso entre las células del endotelio.

Moléculas solubles y receptores relacionados con membrana

El sistema inmunitario innato es polifacético; utiliza como sus efectores una variedad de moléculas solubles así como receptores unidos a la membrana celular. En el lugar de infección o lesión se producen determinados tipos de moléculas solubles y actúan localmente. Entre ellas se incluyen péptidos antimicrobianos como defensinas y catelicidinas así como los **interferones**, un importante grupo de citocinas con acción antivírica, como se expone más adelante y con mayor detalle en el capítulo 12. Otros efectores solubles se producen en sitios distantes y llegan a sus tejidos blanco en el torrente sanguíneo. Las proteínas del complemento y las proteínas de fase aguda corresponden a esta categoría. La naturaleza de estos efectores y sus contribuciones a las defensas del hospedador se estudian más adelante.

Los péptidos antimicrobianos contribuyen a la defensa innata contra bacterias y hongos

Se han aislado péptidos con actividad antimicrobiana de fuentes tan diversas como seres humanos, ranas, moscas, nematodos y varias especies de plantas (cuadro 3-2). El que esta estrategia haya surgido en una fase temprana de la evolución y se haya conservado, así como la identificación de más de 800 péptidos antimicrobianos distintos, son pruebas de su eficacia. Varían en tamaño desde seis hasta 59 aminoácidos, y la mayoría tiene carga positiva (son catiónicos), por ejemplo las magaininas presentes en la piel de las ranas y las defensinas halladas en seres humanos y otras especies. Las defensinas humanas son péptidos

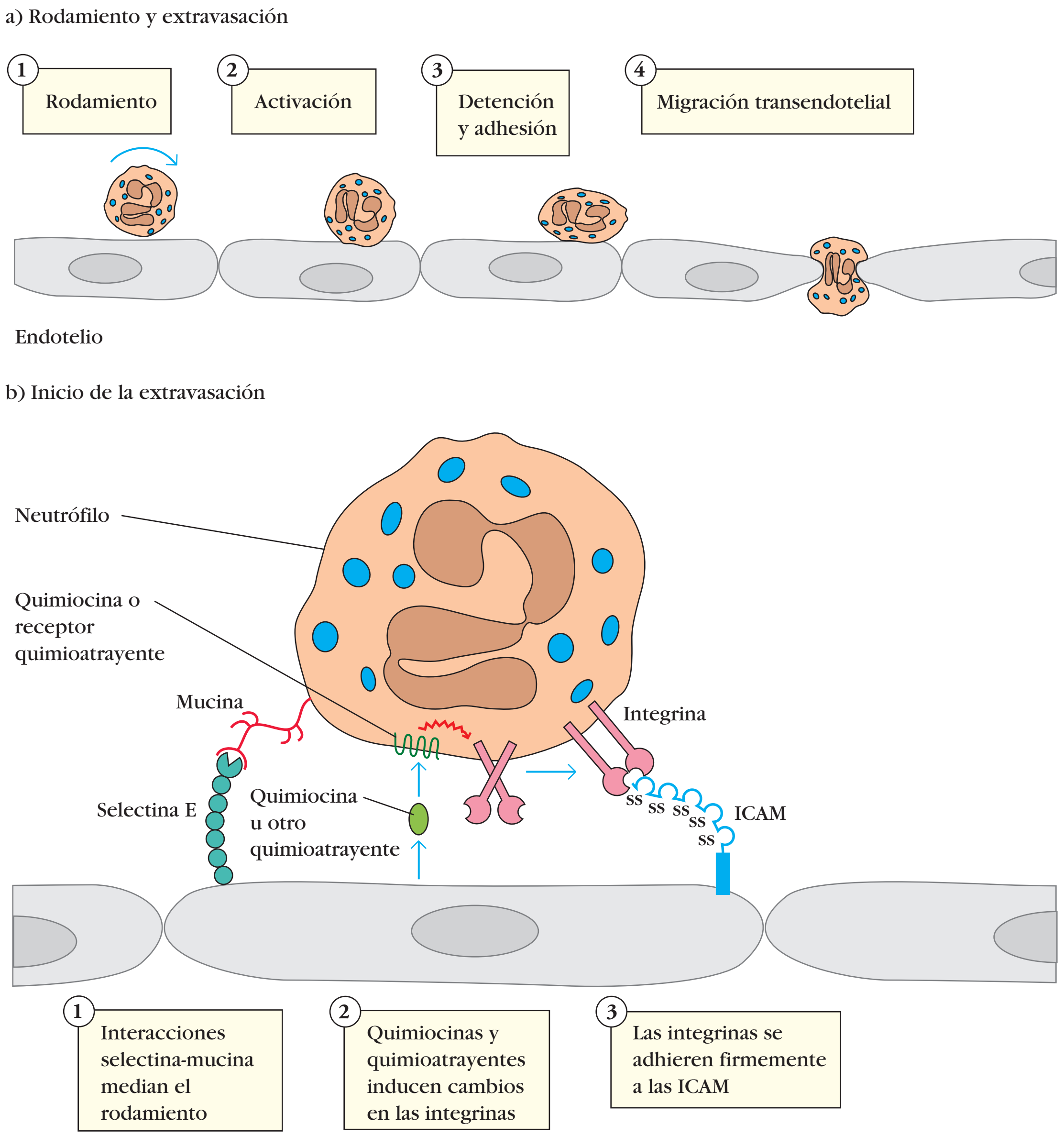

a) Rodamiento y extravasación
1 Rodamiento
2 Activación
3 Detención y adhesión
4 Migración transendotelial
Endotelio
b) Inicio de la extravasación
Neutrófilo
Quimiocina o receptor quimioatrayente
Mucina
Integrina
Selectina E
Quimiocina u otro quimioatrayente
ss ss ss ss ss
ICAM
1 Interacciones selectina-mucina median el rodamiento
2 Quimiocinas y quimioatrayentes inducen cambios en las integrinas
3 Las integrinas se adhieren firmemente a las ICAM

FIGURA 3-7 a) Rodamiento y extravasación de un neutrófilo. b) Moléculas de adhesión y quimiocinas que participan en la extravasación de neutrófilos. El rodamiento es mediado por la unión transitoria de selectinas presentes en el endotelio vascular a mucinas en el neutrófilo. Quimiocinas u otros quimioatrayentes que se unen a un receptor específico en el neutrófilo activan una vía de transducción de señales, de lo que resulta un cambio conformacional en moléculas de integrina que las capacitan para adherirse firmemente a moléculas de adhesión intracelular en la superficie de las células endoteliales.

catiónicos con 29 a 35 residuos de longitud, donde seis cisteínas invariantes forman dos o tres enlaces disulfuro que dan estabilidad a estructuras tridimensionales relativamente rígidas. Las defensinas destruyen una amplia variedad de bacterias, incluidas *Staphylococcus aureus, Streptococcus pneumoniae, E. coli, Pseudomonas aeruginosa* y *Haemophilus influenzae*. Los neutrófilos son fuentes abundantes de estos péptidos, pero existen otras: las células panosas secretan defensinas en el intestino, y las células epiteliales de páncreas y riñón liberan defensinas en el suero. Estos péptidos destruyen microorganismos con rapidez, por lo común en minutos. Incluso los péptidos antimicrobianos de acción lenta ejercen su acción letal en el transcurso de 90 minutos.

Los péptidos antimicrobianos a menudo actúan rompiendo las membranas microbianas. En la actualidad existe interés por investigar el modo en que estos compuestos discriminan entre las membranas celulares microbianas y del hospedador. Si bien la rotura de la membrana es un mecanismo de acción importante, los péptidos antimicrobianos también producen diversos efectos intracelulares, como la inhibición de la síntesis de DNA, RNA o proteínas, y la activación de enzimas antimicrobianas que lisan componentes del patógeno. Los péptidos antimicrobianos no sólo atacan bacterias y hongos sino también virus, y se ha demostrado que dirigen su acción eficazmente contra la envoltura lipoproteínica de algunos virus que la poseen, como el de la gripe y algunos herpesvirus. El alcance de estas actividades, su efica-

CUADRO 3-2 Algunos péptidos antimicrobianos

Péptido	Especie productora típica*	Actividad microbiana típica*
Familia de defensinas		
Defensinas α	Ser humano (en células panosas del intestino y en gránulos citoplásmicos de neutrófilos)	Antibacteriana
Defensinas β	Ser humano (en epitelios y otros tejidos)	Antibacteriana
Catelicidinas	Ser humano, bovinos	Antibacteriana
Magaininas	Rana	Antibacteriana; antimicótica
Cercopinas	Mariposa de la seda	Antibacteriana
Drosomicina	Mosca de la fruta	Antimicótica
Espinigerina	Termita	Antibacteriana; antimicótica

*En muchos casos, la producción del péptido o la familia de péptidos antimicrobianos indicados no se limita a la especie productora típica sino que ocurre en muchas especies distintas. Asimismo, algunos miembros del péptido o la familia indicados tienen actividad antimicrobiana más amplia que la típica que se cita.

cia antimicrobiana demostrada y el surgimiento cada vez mayor de resistencia a los antibióticos existentes han estimulado la investigación sobre la idoneidad de los péptidos antimicrobianos para su uso terapéutico. Sin embargo, persisten las interrogantes acerca de su toxicidad, eficacia y estabilidad in vivo cuando se administran en un entorno clínico. También se ha planteado preocupación por el peligro de que las bacterias pudieran adquirir resistencia a estos antimicrobianos con rapidez si se usan ampliamente, lo cual socavaría un puntal decisivo de la inmunidad innata contra la infección. Por estas razones, los péptidos antimicrobianos aún no se encuentran en uso clínico.

Las proteínas de la reacción de fase aguda contribuyen a la inmunidad innata

Durante los decenios de 1920 y 1930, antes de la introducción de los antibióticos, se dedicó mucha atención al control de la neumonía neumocócica. Los investigadores notaron cambios en la concentración de varias proteínas séricas durante la fase aguda de la enfermedad, la que precede a la recuperación o la muerte. Los cambios séricos se denominaron en conjunto **reacción de fase aguda** (**APR**, del inglés *acute phase response*), y las proteínas cuyas concentraciones aumentan o disminuyen durante esa fase aún se conocen como **proteínas de reacción de fase aguda (proteínas APR)**. Está pendiente de dilucidar la importancia fisiológica de muchas proteínas APR, pero ahora sabemos que algunas, como los componentes del sistema del complemento y la proteína C reactiva, son parte de la respuesta inmunitaria innata a la infección. La reacción de fase aguda (que se expone de manera completa en el cap. 13) es inducida por señales que viajan por la sangre desde sitios de lesión o infección. El hígado es uno de los principales sitios de síntesis de proteínas APR, y las citocinas proinflamatorias TNF-α, IL-1 e IL-6 son las principales señales responsables de inducir la reacción de fase aguda. La producción de estas citocinas es una de las respuestas tempranas de los fagocitos, y el aumento en las concentraciones de proteína C reactiva y otras proteínas de fase aguda como el complemento contribuye a la defensa de diversas maneras. La proteína C reactiva pertenece a una familia de proteínas pentaméricas llamadas **pentraxinas**, que fijan ligandos en una reacción dependiente de calcio. Entre los ligandos reconocidos por CRP están un polisacárido presente en la superficie de especies de neumococos y fosforilcolina, que se encuentra en la superficie de muchos microorganismos. La proteína C reactiva unida a estos ligandos en la superficie de un patógeno promueve la captación por fagocitos y activa un ataque mediado por complemento contra el invasor. (En el enfoque clínico de este capítulo se expone el vínculo entre el papel de la CRP en la inflamación y enfermedad cardíaca.) La lectina de unión a manosa es una proteína de fase aguda que reconoce patrones moleculares que contienen manosa en los microorganismos pero no en células de vertebrados. Asimismo, dicha lectina dirige el ataque del complemento contra los patógenos a los que se une.

La inmunidad innata utiliza diversos receptores para detectar infección

Se han identificado varias moléculas de reconocimiento de patrones; en el cuadro 3-3 se presentan algunos ejemplos. Los receptores tipo Toll son quizá los más importantes de ellas, y se consideran más adelante. Otras están presentes en el torrente sanguíneo y los líquidos tisulares en la forma de proteínas circulantes solubles o unidas a las membranas de macrófagos, neutrófilos y células dendríticas. MBL y CRP, que se consideraron antes, son receptores solubles de reconocimiento de patrones que se unen a superficies microbianas, con lo que promueven la fagocitosis o hacen al invasor un blanco probable de la lisis mediada por complemento. Otro receptor soluble del sistema inmunitario innato, la proteína de unión a lipopolisacárido (LBP, del inglés *lipopolysaccharide-binding protein*), es parte importante del sistema que reconoce y señaliza una respuesta a lipopolisacárido, que es un componente de la pared celular externa de las bacterias gramnegativas. Las proteínas NOD (de n*ucleotide-binding oligomerization domain*, dominio de oligomerización y unión a nucleótido) constituyen el grupo de receptores cuya participación en la inmunidad innata se descubrió en fecha más reciente. Estas proteínas son citosólicas, y dos miembros de esta familia, NOD1 y NOD2, reconocen productos derivados de peptidoglucanos bacterianos. NOD1 se une a tripéptidos producto de la degradación de peptidoglucano, y NOD2 reconoce muramildipéptido, derivado de la degradación de peptidoglucano de las paredes celulares de bacterias grampositivas.

CUADRO 3-3 Receptores del sistema inmunitario innato

Receptor (ubicación)	Blanco (fuente)	Efecto del reconocimiento
Complemento (torrente sanguíneo, líquidos tisulares)	Componentes de la pared celular microbiana	Activación del complemento, opsonización, lisis
Lectina de unión a manosa (MBL) (torrente sanguíneo, líquidos tisulares)	Carbohidratos microbianos que contienen manosa (paredes celulares)	Activación del complemento, opsonización
Proteína C reactiva (CRP) (torrente sanguíneo, líquidos tisulares)	Fosfatidilcolina, polisacárido neumocócico (membranas microbianas)	Activación del complemento, opsonización
Receptor de lipopolisacárido (LPS);* proteína de unión a LPS (LBP) (torrente sanguíneo, líquidos tisulares)	Lipopolisacárido bacteriano (paredes celulares de bacterias gramnegativas)	Envío a la membrana celular
Receptores tipo Toll (superficie celular o compartimientos internos)	Componentes microbianos no presentes en los hospedadores	Inducción de respuestas innatas
Receptores de la familia NOD† (intracelulares)	Componentes de la pared celular bacteriana	Inducción de respuestas innatas
Receptores depuradores (SR) (membrana celular)	Muchos blancos; bacterias grampositivas y gramnegativas, células apoptósicas del hospedador	Inducción de fagocitosis o endocitosis

*El LPS se une a la membrana celular por medio de un complejo de proteínas que incluye CD14, MD-2 y TLR (por lo común TLR4).

†Dominio de oligomerización y unión a nucleótido.

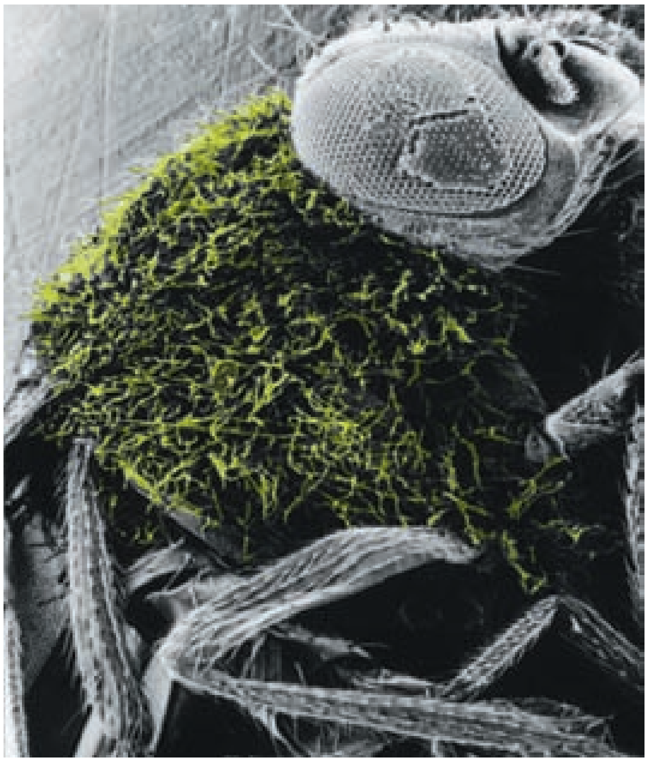


FIGURA 3-8 Infección micótica grave en una mosca de la fruta (color) con una mutación discapacitante en la vía de transducción de señales necesaria para la síntesis del péptido antimicótico drosomicina. *[Micrografía electrónica adaptada de B Lemaitre et al., 1996,* Cell *86:973; cortesía de J. A. Hoffman, Universidad de Estrasburgo.]*

Entre los receptores de reconocimiento de patrones presentes en la membrana celular se incluyen receptores depuradores o "receptores de basura" (SR, del inglés *scavenger receptors*), que se encuentran en los macrófagos y muchos tipos de células dendríticas. Los SR participan en la unión e internalización de bacterias grampositivas y gramnegativas así como en la fagocitosis de células apoptósicas del hospedador. Se investigan activamente las funciones y los mecanismos de estos receptores.

Receptores tipo Toll

La proteína Toll llamó la atención por primera vez en el decenio de 1980, cuando investigadores en Alemania observaron que en las moscas en desarrollo no se formaba un eje dorsoventral adecuado en ausencia de esa proteína. (El término *Toll*, aplicado a la caprichosa configuración anatómica de las moscas mutantes, significa "raro" o "extravagante" en *slang* de Alemania.) Toll es una proteína receptora de señales transmembranales; algunas moléculas relacionadas que participan en la inmunidad innata recibieron el nombre de **receptores tipo Toll** (**TLR**, del inglés *Toll-like receptors*). Tres descubrimientos recientes dieron origen a una explosión de conocimiento acerca del papel central de los TLR en la inmunidad innata. La primera observación provino de la mosca de la fruta. En 1996, Jules Hoffman y Bruno Lemaitre descubrieron que las mutaciones en Toll, que ya se sabía que participaban en el desarrollo de la mosca, hacían al insecto altamente susceptible a la infección letal por *Aspergillus fumigatus*, un hongo al que las moscas de tipo silvestre son inmunes (fig. 3-8). Este experimento señero demostró de manera convincente

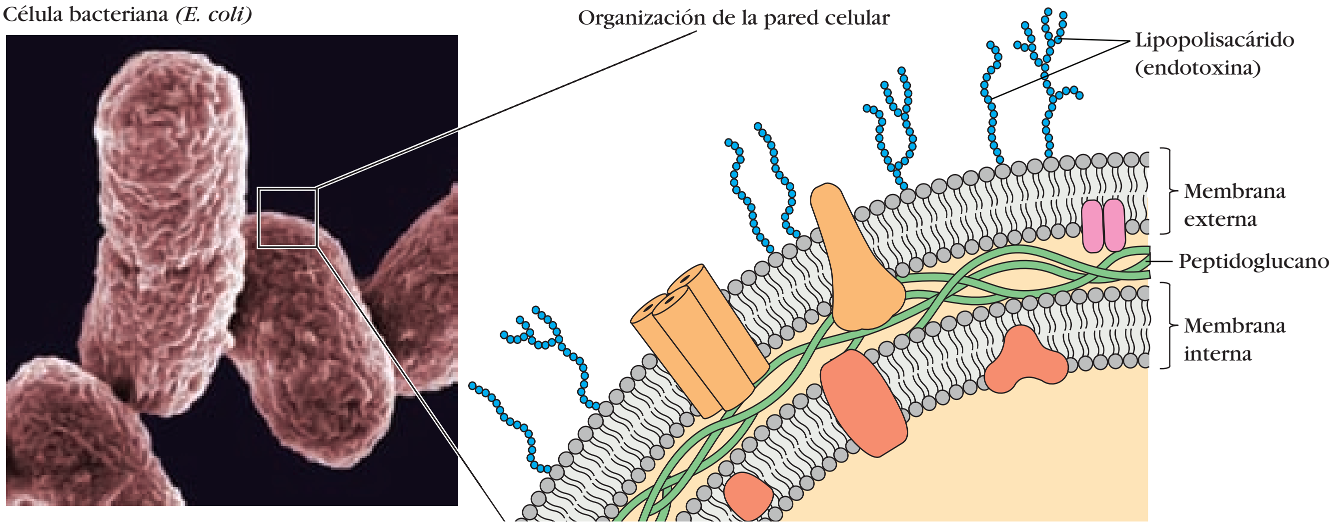

Célula bacteriana (E. coli)
Organización de la pared celular
Lipopolisacárido (endotoxina)
Membrana externa
Peptidoglucano
Membrana interna

FIGURA 3-9 **Lipopolisacárido (LPS) en la pared celular de *E. coli*.** El LPS es un potente estímulo de la inmunidad innata. *[Micrografía de Gary Gaugler/Visuals Unlimited.]*

la importancia de las inmunorreacciones desencadenadas por patógenos en un invertebrado. Un año más tarde, en 1997, Ruslan Medzhitov y Charles Janeway descubrieron que una proteína humana, identificada por homología entre su dominio citoplásmico y el de Toll, activaba la expresión de genes de inmunorreacción cuando se transfectaban a una línea experimental de células humanas. Dicha proteína humana se bautizó más tarde como TLR4. Ésta fue la primera prueba de que una vía de inmunorreacción se conservaba entre la mosca de la fruta y el ser humano. En 1998 se obtuvieron pruebas de que los TLR son parte de la fisiología inmunitaria normal de los mamíferos en estudios con ratones mutantes realizados en el laboratorio de Bruce Beutler. Los ratones homocigóticos para el locus *lps* eran resistentes al lipopolisacárido (LPS), también conocido como endotoxina, que proviene de las paredes celulares de las bacterias gramnegativas (fig. 3-9). En seres humanos, la acumulación de endotoxina en una infección bacteriana grave puede causar choque séptico, una condición que pone en peligro la vida por fallo potencial de órganos vitales como encéfalo, corazón, riñones e hígado. Cada año, unas 20 000 personas mueren por choque séptico causado por infecciones de gramnegativos, por lo cual fue impactante que algunas cepas mutantes de ratones fueran resistentes a las dosis letales de LPS. La determinación de la secuencia del DNA reveló que el gen murino *lps* codifica una forma mutante de receptor tipo Toll, TLR4, la cual difiere de la forma normal en un solo aminoácido. Este trabajo constituyó una demostración inequívoca de que el TLR4 es indispensable para el reconocimiento del LPS y mostró que los TLR en efecto participan en la inmunofisiología normal. En muy pocos años, el trabajo de muchos investigadores ha demostrado que existen varios TLR. Hasta la fecha se han detectado 11 en seres humanos y 12 en ratones.

Los receptores tipo Toll son proteínas transmembranales que comparten un elemento estructural común en su región extracelular, segmentos repetitivos de 24 a 29 aminoácidos que contienen la secuencia xLxxLxLxx (donde x es cualquier aminoácido y L es leucina). Estos motivos estructurales se denominan repeticiones ricas en leucina (**LRR**, del inglés *leucine-rich repeats*) (fig. 3-10). Todos los TLR contienen varias LRR, y un subconjunto de las LRR constituye la región extracelular de unión a ligando del TLR. El dominio intracelular de los TLR se denomina dominio TIR (de T*oll*/*IL-1* r*eceptor*, receptor Toll/IL-1), por alusión a la similitud entre los dominios citoplásmicos de los TLR y la región comparable de un receptor para

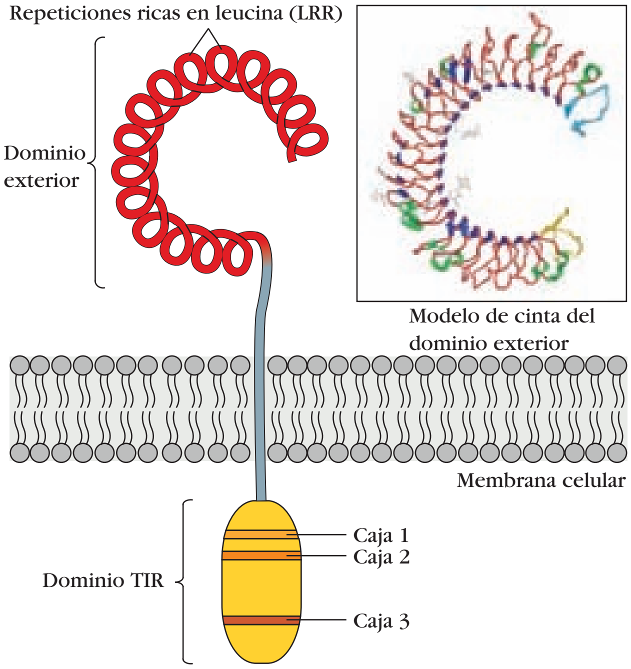

Repeticiones ricas en leucina (LRR)
Dominio exterior
Modelo de cinta del dominio exterior
Membrana celular
Dominio TIR
Caja 1
Caja 2
Caja 3

FIGURA 3-10 **Estructura de un receptor tipo Toll (TLR).** Los receptores tipo Toll tienen una región exterior que contiene muchas repeticiones ricas en leucina (LRR), un dominio transmembranal y un dominio interior llamado dominio TIR. El sitio de unión al ligando del TLR se encuentra entre las LRR. El dominio TIR interactúa con los dominios TIR de otros miembros de la vía de transducción de señales por TLR; tres secuencias altamente conservadas de aminoácidos llamadas cajas 1, 2 y 3 son esenciales para esta interacción y son características de los dominios TIR.

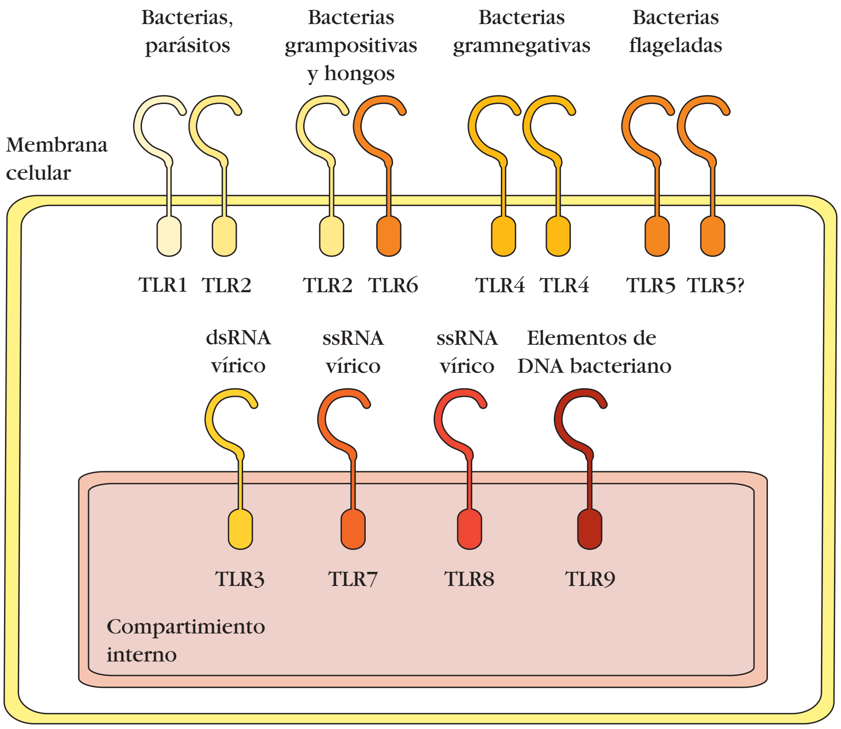

Bacterias, parásitos
Bacterias grampositivas y hongos
Bacterias gramnegativas
Bacterias flageladas
Membrana celular
TLR1
TLR2
TLR2
TLR6
TLR4
TLR4
TLR5
TLR5?
dsRNA vírico
ssRNA vírico
ssRNA vírico
Elementos de DNA bacteriano
TLR3
TLR7
TLR8
TLR9
Compartimiento interno

FIGURA 3-11 Receptores tipo Toll y sus ligandos. Los TLR que interactúan con ligandos extracelulares residen en la membrana plasmática; los TLR que se unen a ligandos generados dentro de la célula se localizan en membranas intracelulares. Algunos TLR forman dímeros con otros TLR; TLR4 se dimeriza consigo mismo (y es posible que algo similar ocurra en el caso de TLR5). Tal vez otros TLR funcionen como monómeros, o bien como dímeros con compañeros aún por descubrir.

TLR	Ligandos	Microorganismos blanco
TLR1	Triacil-lipopéptidos	Micobacterias
TLR2	Peptidoglucanos Proteínas unidas a GPI Lipoproteínas Zimosán	Bacterias grampositivas Tripanosomas Micobacterias Levaduras y otros hongos
TLR3	RNA bicatenario (dsRNA)	Virus
TLR4	LPS Proteína F	Bacterias gramnegativas Virus sincicial respiratorio (RSV)
TLR5	Flagelina	Bacterias
TLR6	Diacil-lipopéptidos Zimosán	Micobacterias Levaduras y otros hongos
TLR7	RNA monocatenario (ssRNA)	Virus
TLR8	RNA monocatenario (ssRNA)	Virus
TLR9	Dinucleótidos desmetilados CpG Dinucleótidos	DNA bacteriano
	Infección por herpesvirus	Algunos herpesvirus
TLR10,11	Desconocido	Desconocido

IL-1, una importante molécula reguladora. Como se muestra en la figura 3-10, los dominios TIR tienen tres regiones, altamente conservadas entre todos los miembros de la familia TIR, llamadas cajas (secuencias) 1, 2 y 3, las cuales sirven como sitios de unión para proteínas intracelulares que participan en las vías de señalización mediadas por TLR.

Se han determinado las funciones de nueve de los 11 TLR presentes en el ser humano. Resulta sorprendente que cada TLR detecta un repertorio distinto de moléculas patógenas altamente conservadas. El conjunto completo de TLR presentes en un ratón o en un ser humano es capaz de detectar una amplia variedad de virus, bacterias, hongos e incluso algunos protozoarios simples. En la figura 3-11 se presenta el conjunto de TLR humanos cuyos ligandos y funciones se han determinado. Es notable que los ligandos que se unen a TLR son componentes indispensables de los patógenos: un virus no podría funcionar sin su ácido nucleico, las bacterias gramnegativas no podrían formarse sin sus paredes que contienen LPS, y los hongos deben incorporar el polisacárido zimosán en su pared celular. Los patógenos simplemente no tienen la opción de mutar a formas que carecen de los componentes esenciales que son reconocidos por los TLR. Como se muestra en la figura 3-11, los TLR que reconocen ligandos extracelulares se encuentran en la superficie de las células, mientras que los que reconocen ligandos intracelulares, como RNA vírico o fragmentos de DNA de bacterias, se localizan en compartimientos intracelulares.

Varios receptores tipo Toll, los TLR 1, 2, 4 y 6, funcionan como dímeros (en algunos casos, en el complejo formado se incorporan proteínas adicionales). Uno de ellos, TLR4, se parea consigo mismo (formando un homodímero), y los otros forman complejos mixtos (heterodímeros). Aún no se determinan los compañeros de los TLR 3, 7, 8 y 9, que tal vez actúen como monómeros, y algunos datos sugieren que TLR podría existir como heterodímero.

El pareamiento de los TLR afecta su especificidad. TLR2 acoplado a TLR6 se une a una amplia variedad de clases moleculares presentes en los microorganismos, incluidos peptidoglucanos, zimosanos y lipopéptidos bacterianos. Sin embargo, cuando se parea con TLR1, el TLR2 reconoce lipoproteínas bacterianas y algunas proteínas de superficie características de parásitos. TLR4 es el receptor clave para la mayoría de los lipopolisacáridos bacterianos. TLR5 reconoce la flagelina, importante componente estructural de los flagelos bacterianos. TLR3 reconoce el RNA bicatenario (dsRNA, del inglés *double-stranded RNA*) que aparece en las células después de la infección por virus de RNA, y el RNA monocatenario (ssRNA, del inglés *single-stranded RNA*) es el ligando de TLR8 y TLR7. Por último, TLR9 reconoce la secuencia CpG (citocina desmetilada unida a guanina) del DNA e inicia una respuesta contra ella. Secuencias desmetiladas como ésta abundan en el DNA microbiano y son mucho menos comunes en el DNA de los vertebrados.

Tipos celulares de inmunidad innata

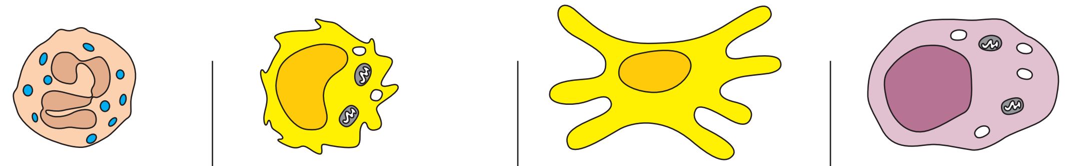
En las inmunorrespuestas innatas suelen participar muchos tipos celulares distintos. Los actores principales son neutrófilos, macrófagos, monocitos, células asesinas naturales y células dendríticas. En la figura 3-12 se indican las funciones de los principales tipos celulares de la inmunidad innata.

Los neutrófilos se especializan en fagocitosis y matanza

Los neutrófilos son las primeras células en migrar de la sangre a los sitios de infección, y llegan con un vasto arsenal que desplegar contra los agentes infecciosos. Son esenciales para la defensa innata contra bacterias y hongos. Si bien la fagocitosis es la principal arma de los neutrófilos contra los invasores, otros mecanismos contribuyen a contener y eliminar los patógenos. Los neutrófilos exhiben varios receptores tipo Toll en su superficie. El TLR2 les permite detectar los peptidoglucanos de las bacterias grampositivas, y el TLR4 detecta el lipopolisacárido presente en las paredes celulares de los gramnegativos. Además de los TLR, hay otros receptores de reconocimiento de patrón en la superficie del neutrófilo.

Mientras los neutrófilos pueden reconocer patógenos de manera directa, la unión y la fagocitosis mejoran de modo impresionante si los microorganismos son marcados (opsonizados) por la fijación de anticuerpo, componentes del complemento, o ambos. Aun en ausencia de anticuerpos específicos de antígeno, las proteínas del complemento en el suero pueden depositar fragmentos proteínicos en la superficie de los patógenos para facilitar la fijación por neutrófilos, seguida de fagocitosis rápida.

En neutrófilos, monocitos y macrófagos otros dos recursos antimicrobianos, los ataques oxidativo y no oxidativo, contribuyen a una defensa polifacética, coordinada y altamente eficaz. La rama oxidativa utiliza especies reactivas de oxígeno (ROS, del inglés *reactive oxygen species*) y especies reactivas de nitrógeno (RNS). Las primeras son generadas por el complejo enzimático **oxidasa fagosómica de NADPH** (**NADPH phox**, del inglés *NADPH phagosome oxidase*). Los microorganismos fagocitados se internalizan en vacuolas llamadas fagosomas, donde se emplean especies reactivas de oxígeno como microbicidas. El oxígeno consumido por los fagocitos para sustentar la producción de ROS por la enzima phox proviene de un proceso metabólico conocido como **explosión respiratoria**, durante la cual la captación de oxígeno por la célula aumenta varias veces. Las ROS



Tipo celular	**Neutrófilos**	**Macrófagos**	**Células dendríticas**	**Células asesinas naturales**
Función	Fagocitosis Especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno Péptidos antimicrobianos	Fagocitosis Mediadores inflamatorios Presentación de antígeno Especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno Citocinas Proteínas del complemento	Presentación de antígeno Señales coestimulatorias Especies reactivas de oxígeno Interferón Citocinas	Lisis de células infectadas por virus Interferón Activación de macrófagos

FIGURA 3-12 Principales leucocitos que participan en la inmunidad innata. Los monocitos, no mostrados aquí, tienen muchas de las capacidades de los macrófagos.

ENFOQUE CLÍNICO

La proteína C reactiva es un marcador clave de riesgo cardiovascular

Las enfermedades cardiovasculares[1] son la principal causa de muerte en Estados Unidos y Europa, y a nivel mundial sólo son superadas por las enfermedades infecciosas. La causa más frecuente de enfermedad cardiovascular es la aterosclerosis, la acumulación progresiva de lípidos y elementos fibrosos en las arterias. La aterosclerosis es una enfermedad compleja cuya comprensión aún dista mucho de ser completa. Sin embargo, un cúmulo creciente de datos identifica la inflamación como un factor importante en el avance de la aterosclerosis. El vínculo entre inflamación, sistema inmunitario y arteriopatía fue sugerido inicialmente por estudios en que se alimentó a animales con una dieta inductora de aterosclerosis y luego se examinaron las paredes arteriales y se les comparó con las de los animales testigos. La microscopia óptica reveló que las paredes arteriales de los testigos estaban libres de leucocitos, mientras que las propias de los animales que recibieron la dieta inductora de aterosclerosis tenían muchos de éstos firmemente adheridos. Esto causó sorpresa, porque el flujo de sangre arterial normalmente impide la adhesión firme de leucocitos a las paredes arteriales. Estudios adicionales han mostrado que los leucocitos son importantes en el desarrollo de las placas ateroscleróticas. En la fase inicial de la enfermedad se adhieren monocitos a las paredes arteriales, migran a través de la capa de células endoteliales y se diferencian en macrófagos. Receptores depuradores presentes en la superficie de los macrófagos capturan partículas de lipoproteína y las internalizan, con lo que acumulan gotas de lípido y adoptan un aspecto "espumoso". Estos macrófagos espumosos secretan enzimas proteolíticas, especies reactivas de oxígeno (ROS) y citocinas. Las proteasas degradan la matriz extracelular local, que experimenta alguna remodelación durante el proceso reparativo. Las citocinas y ROS intensifican la inflamación, y más células y lípidos migran a la placa recién formada, dejando la arteria más estrecha y susceptible al bloqueo. Tal bloqueo de arterias cardíacas se denomina infarto de miocardio. Cierra el flujo sanguíneo a regiones del corazón, lo cual priva de oxígeno el músculo irrigado por el vaso ocluido en lo que se denomina "ataque cardíaco". En un porcentaje significativo de los casos, el primer ataque cardíaco es fatal. Por ello es ventajoso identificar a los individuos en riesgo de sufrir un primer ataque a fin de poder instituir tratamientos preventivos y cambios en el modo de vida.

El nexo entre inflamación y formación de placa ha llevado a los investigadores a examinar marcadores inflamatorios como predictores de problemas cardiovasculares. En un estudio reciente con varones y mujeres se midieron los valores sanguíneos de varios marcadores de inflamación, incluidos interleucina 6 (IL-6), receptores solubles de factor de necrosis tumoral α (TNF-α) y la proteína de reacción de fase aguda llamada proteína C reactiva (CRP). Además de los marcadores inflamatorios recién mencionados, en el estudio se examinó el factor de riesgo más tradicional, colesterol, y sus marcadores relacionados LDL y HDL.[2] El riesgo asociado a los marcadores inflamatorios se comparó con el asociado a los marcadores relacionados con colesterol. Se recabaron historias clínicas exhaustivas, y los datos se ajustaron según el riesgo asociado a los siguientes factores de historia clínica y de modo de vida que se sabe incrementan el peligro de cardiopatía:

- Antecedente paterno de coronariopatía antes de los 60 años de edad
- Consumo excesivo de alcohol
- Tabaquismo
- Obesidad
- Actividad física insuficiente
- Hipertensión (presión arterial elevada)
- Diabetes

comprenden una combinación de anión superóxido ($\bullet O_2^-$), peróxido de hidrógeno (H_2O_2) y ácido hipocloroso (HOCl), el componente activo del blanqueador doméstico. La fagocitosis desencadena la generación de ROS por neutrófilos y macrófagos, y activa la oxidasa fagosómica de NADPH. Entonces el complejo enzimático produce superóxido (fig. 3-13). Las otras especies reactivas de oxígeno altamente tóxicas (peróxido de hidrógeno y ácido hipocloroso) se generan a partir del superóxido.

Como se muestra en la figura 3-13, la reacción de óxido nítrico con superóxido genera especies reactivas de nitrógeno. Así, la explosión respiratoria contribuye tanto a la producción de ROS como a la de RNS. La importancia que para la defensa antimicrobiana tienen la oxidasa fagosómica de NADPH y sus productos, ROS y RNS, es ilustrada por el aumento impresionante de la susceptibilidad a infecciones micóticas y bacterianas que se observa en pacientes que sufren de la **enfermedad granulomatosa crónica**, la cual es causada por un defecto en la capacidad de la phox de generar especies oxidantes.

Algunos patógenos, como la levadura *Candida albicans* y la bacteria *S. aureus*, no son destruidos de manera eficaz sólo por ataque oxidativo. La inclusión de defensas no oxidativas en el arsenal de los neutrófilos (y macrófagos) incrementa en gran medida su capacidad defensiva contra los microorganismos. Las defensas no oxidativas son lanzadas cuando los gránulos neutrofílicos se fusionan con los fagosomas, de modo que añaden a la mezcla su carga de péptidos y proteínas antimicrobianos. Entre las segundas se encuentra la proteína bactericida de incremento de la permeabilidad (BPI, del inglés *bactericidal/permeability-increasing protein*), una notable proteína de 55 kDa que se une con gran afinidad al LPS de las paredes de las bacterias gramnegativas y daña la membrana interna. Otros agentes presentes en los gránulos de los neutrófilos son enzimas (p. ej., proteasas y lisozima) que hidrolizan componentes estructurales esenciales de los microorganismos. Entre los péptidos antimicrobianos se incluyen defensinas y catelicidinas, péptidos catiónicos con una amplia gama de actividad antimicrobiana.

Los macrófagos despliegan varios recursos contra los patógenos

Los macrófagos en estado de reposo son activados por una variedad de estímulos. Los TLR de la superficie de los macró-

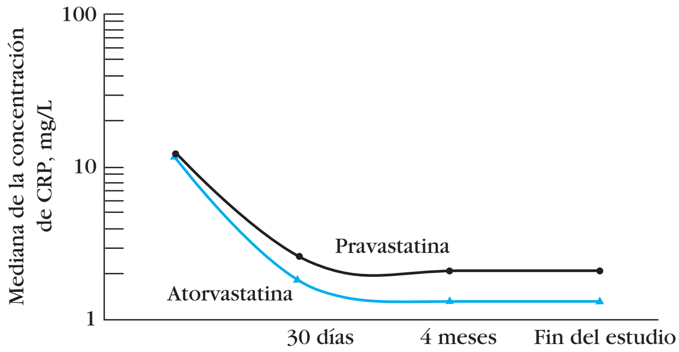
El grupo de estudio fue vigilado por seis a ocho años, y se registró el número de ataques cardíacos letales y no letales. De los marcadores de inflamación estudiados, sólo la CRP se vinculó con mayor riesgo de coronariopatía. Al comparar el valor predictivo de los valores de CRP en pacientes con distintas proporciones de (colesterol total)/(colesterol unido a HDL), este marcador inflamatorio se correlaciona con aumento de riesgo. De manera específica, en el estudio se observó que las altas concentraciones de CRP son un factor de más alto riesgo para pacientes con menores proporciones (colesterol total)/(colesterol unido a HDL) que para pacientes en que esta proporción es alta.

En el último decenio se ha visto el uso creciente de una clase de fármacos que reducen la concentración de colesterol llamados **estatinas**. Estos fármacos inhiben la biosíntesis de colesterol al tiempo que reducen la inflamación. En un estudio reciente se examinó si las estatinas reducen las concentraciones de CRP y si los pacientes con síndromes coronarios agudos con menores valores de CRP como resultado del tratamiento con estatinas tendrían menor riesgo de un segundo ataque cardíaco que quienes tenían mayores concentraciones de CRP. Los investigadores observaron que la administración de estatinas causaba reducciones impresionantes en los valores de CRP. También descubrieron que en los pacientes en quienes el tratamiento con estatina reducía los valores de CRP a 2 mg/L o menos, la frecuencia de ataques cardíacos era significativamente menor que en los pacientes cuyos valores permanecían por encima de esa cifra, y hubo un notable paralelismo entre menor CRP y concentraciones más bajas de LDL.

Las pruebas de un vínculo entre enfermedad cardiovascular e inflamación han venido acumulándose durante muchos años. En vista de la probada participación de la CRP como agente de la inmunidad innata y mediador de la inflamación, el descubrimiento de que los valores de CRP son útiles para evaluar el riesgo de ataque cardíaco refuerza esta hipótesis. La observación de que el tratamiento con estatinas —originalmente introducidas para reducir el colesterol— también reduce la concentración de CRP constituye un avance inesperado, pues apoya la hipótesis de un nexo entre inflamación y enfermedad cardiovascular.

[1] Entre las enfermedades cardiovasculares se incluyen los infartos del miocardio, o ataques cardíacos.

[2] La lipoproteína de alta densidad (HDL, del inglés *high-density lipoprotein*), a menudo llamada de manera imprecisa "colesterol bueno", y la lipoproteína de baja densidad (LDL, del inglés *low-density lipoprotein*), a menudo llamada "colesterol malo", son complejos de colesterol y proteína. La LDL elevada es un factor de riesgo de enfermedad cardiovascular.



El tratamiento con estatinas reduce las concentraciones séricas de proteína C reactiva (CRP). Se sometió a prueba a los sujetos con una de dos estatinas, pravastatina o atorvastatina. La reducción de los valores de CRP fue impresionante y se mantuvo a largo plazo. *[Adaptada de P. M. Ridker et al., 2005,* New England Journal of Medicine ***352****:20.]*

fagos reconocen componentes microbianos, como LPS, peptidoglucanos y flagelinas, y receptores de citocina detectan citocinas liberadas por otras células como parte de la respuesta inflamatoria. Tras ser activados, los macrófagos presentan mayor actividad fagocítica, son más capaces de destruir microorganismos ingeridos, y secretan mediadores de la inflamación. También expresan concentraciones más altas de moléculas MHC clase II, las cuales presentan antígeno a las células T_H: otro punto importante de colaboración entre los sistemas inmunitarios innato y adaptativo. Los patógenos ingeridos por macrófagos son destruidos de manera eficaz en los fagosomas por muchos de los mismos agentes microbicidas usados por los neutrófilos, con participación tanto de especies reactivas de oxígeno como de especies reactivas de nitrógeno (fig. 3-13). Un arma química adicional de los macrófagos y neutrófilos ha sido bien estudiada. Después de la activación, mediada por receptores como TLR o la exposición a las citocinas apropiadas, los fagocitos expresan altas concentraciones de **sintetasa de óxido nítrico inducible** (**iNOS**, del inglés *inducible nitric oxide synthetase*), una enzima que oxida L-arginina a L-citrulina y óxido nítrico (NO):

$$\text{L-arginina} + O_2 + \text{NADPH} \xrightarrow[\text{iNOS}]{} \text{NO} + \text{L-citrulina} + \text{NADP}$$

La enzima se denomina NOS *inducible* para distinguirla de otras formas presentes en el organismo.

El óxido nítrico tiene potente actividad antimicrobiana y puede combinarse con superóxido para producir sustancias antimicrobianas aún más potentes. Pruebas recientes indican que el óxido nítrico y algunas sustancias derivadas de él explican gran parte de la actividad antimicrobiana de los macrófagos contra bacterias, hongos, gusanos parásitos y protozoarios. Esto fue demostrado de manera impresionante con ratones en los cuales se desactivaron los genes que codifican reductasa de óxido nítrico inducible. Los ratones perdieron gran parte de su capacidad de controlar las infecciones causadas por patógenos intracelulares tales como *Mycobacterium tuberculosis*, la bacteria productora de la tuberculosis, y *Leishmania major*, el protozoario parásito intracelular que causa la leishmaniasis.

Además de matar y destruir patógenos, los macrófagos también intervienen en la coordinación de otras células y tejidos del sistema inmunitario y de otros sistemas de apoyo. Ejercen esta

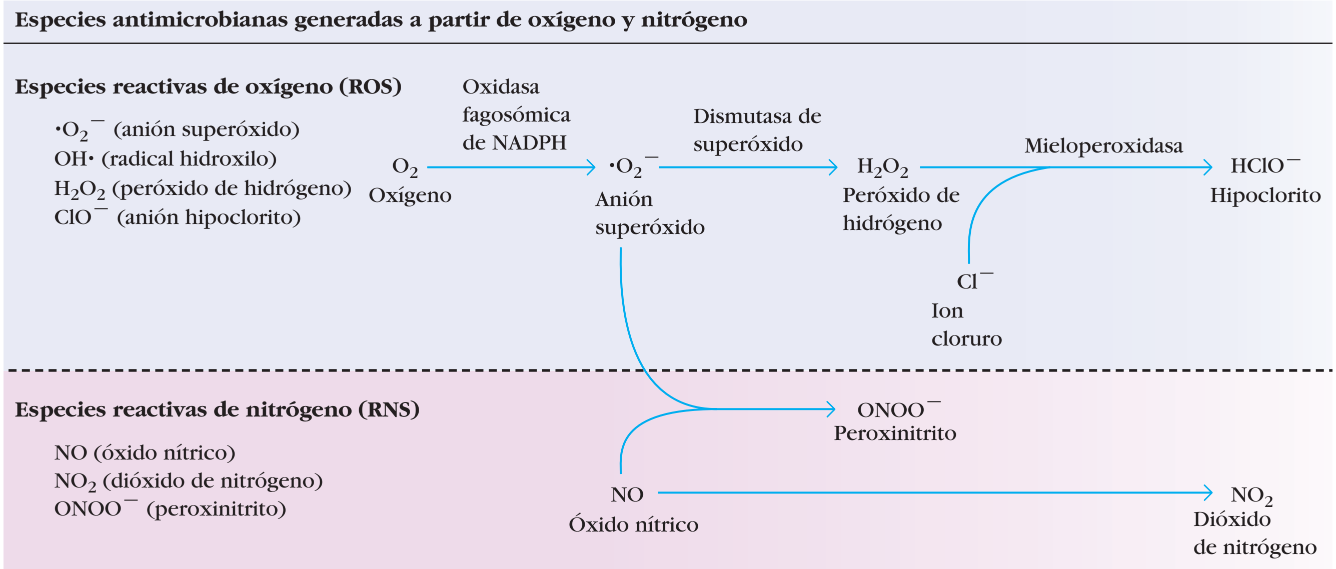

Especies antimicrobianas generadas a partir de oxígeno y nitrógeno
Especies reactivas de oxígeno (ROS)
$\cdot O_2^-$ (anión superóxido)
OH• (radical hidroxilo)
H_2O_2 (peróxido de hidrógeno)
ClO^- (anión hipoclorito)
Oxidasa fagosómica de NADPH
O_2 Oxígeno
$\cdot O_2^-$ Anión superóxido
Dismutasa de superóxido
H_2O_2 Peróxido de hidrógeno
Mieloperoxidasa
$HClO^-$ Hipoclorito
Cl^- Ion cloruro
Especies reactivas de nitrógeno (RNS)
NO (óxido nítrico)
NO_2 (dióxido de nitrógeno)
$ONOO^-$ (peroxinitrito)
$ONOO^-$ Peroxinitrito
NO Óxido nítrico
NO_2 Dióxido de nitrógeno

FIGURA 3-13 Generación de especies reactivas de oxígeno y de nitrógeno. Dentro de los confines de los neutrófilos y macrófagos, varias enzimas transforman oxígeno molecular en especies altamente reactivas de oxígeno (ROS) que tienen actividad antimicrobiana. Uno de los productos de esta vía, el anión superóxido, es capaz de interactuar con especies reactivas de nitrógeno (RNS) para producir peroxinitrito, otra RNS. El NO puede experimentar asimismo oxidación para generar la RNS dióxido de nitrógeno.

influencia por medio de la secreción de una variedad de citocinas, como IL-1, TNF-α e IL-6. Estas citocinas son especialmente aptas para promover respuestas inflamatorias, aunque cada uno de estos agentes tiene una variedad de efectos. Por ejemplo, la IL-1 activa linfocitos, e IL-1, IL-6 y TNF-α promueven la fiebre al influir en el centro termorregulador del hipotálamo. Asimismo, estas citocinas promueven la reacción de fase aguda considerada antes y en el capítulo 13. Además de citocinas, los macrófagos activados producen proteínas del complemento que promueven la inflamación y ayudan a eliminar patógenos. Aunque el principal sitio de síntesis de proteínas del complemento es el hígado, éstas también se producen en macrófagos y otros tipos celulares.

Las células NK son una importante primera línea de defensa contra los virus y constituyen una señal de activación clave para otras células

Las **células asesinas naturales (NK)** son una primera línea de defensa contra muchas infecciones víricas distintas. Utilizando un sistema que se considera en el capítulo 14 el cual les permite distinguir entre células infectadas y no infectadas del hospedador, las células NK detectan y destruyen células infectadas, que son fuentes potenciales de grandes cantidades de otras partículas víricas infecciosas. La lisis mediada por células NK elimina de manera eficaz la infección o la mantiene bajo control durante días, hasta que el sistema inmunitario adaptativo ataca la infección con linfocitos T citotóxicos y anticuerpos específicos para el virus. Sin embargo, probablemente algunas infecciones víricas son eliminadas de manera completa por mecanismos innatos como las células NK sin ninguna ayuda de la inmunidad adaptativa. Las células asesinas naturales activadas también son potentes productoras de diversas citocinas que regulan otras células del sistema inmunitario, y por tanto moldean y modifican las defensas presentes y futuras del organismo contra el patógeno. Es notable que las células NK produzcan interferón γ y TNF-α, dos potentes y versátiles citocinas inmunorreguladoras. Ambas pueden estimular la maduración de las células dendríticas, los coordinadores clave de la inmunidad innata y adaptativa, que se consideran en la siguiente sección. El interferón γ es también un potente mediador de la activación de macrófagos y un importante regulador del desarrollo de las células T_H, al establecer un vínculo directo entre las células NK y el sistema adaptativo.

Las células dendríticas atacan patógenos e invocan inmunorreacciones adaptativas al activar células T

Las células dendríticas establecen un vínculo más amplio entre la inmunidad innata y la adaptativa que las otras células de la inmunidad innata al interactuar tanto con células T_H como con células T_C. Las células dendríticas maduras son capaces de activar ambos tipos de linfocitos porque tienen la capacidad de presentar antígenos exógenos tanto en MHC I como en MHC II y enviar intensas señales coestimuladoras a las células T. Como agentes de inmunidad innata, las células dendríticas inmaduras utilizan una variedad de PRR, en especial TLR, para reconocer patógenos. Este reconocimiento causa la activación de células dendríticas, que entonces experimentan un proceso de maduración que incluye una mayor producción de moléculas MHC clase II y moléculas coestimuladoras para la activación de linfocitos T. Como la mayoría de las células nucleadas, las células dendríticas normalmente expresan moléculas MHC clase I. Entonces las DC migran a tejidos linfoides, donde presentan antígeno tanto a células T colaboradoras (T_H) dependientes de MHC clase II como a células T citotóxicas (T_C) dependientes de MHC clase I.

La respuesta de las células dendríticas no se limita al papel de importancia vital de la comunicación entre la inmunidad innata y la adaptativa. Estas versátiles células también montan ataques directos contra los patógenos que detectan. Las células dendríticas son capaces de generar las especies reactivas de oxígeno y óxido nítrico, y se ha informado que también producen péptidos antimicrobianos. Por tanto, los patógenos que son fagocitados por células dendríticas son destruidos por muchos de los mismos agentes que los macrófagos usan. Además, hay un subconjunto de células dendríticas, las DC plasmacitoides, que son potentes productoras de interferones tipo I, una familia de citocinas antivíricas que en células infectadas por virus y otras células cercanas inducen un estado que es incompatible con la multiplicación vírica. Una actividad crítica de los virus es la expresión de sus genomas en las células hospedadoras. El contacto de los TLR presentes en las células dendríticas plasmacitoides con ácido nucleico extraño desencadena la producción de los interferones tipo I que bloquean la multiplicación vírica. Otros subconjuntos de células dendríticas producen interleucina 12, TNF-α e IL-6, potentes inductores de la inflamación. Uno de los miembros de este grupo, la IL-12, tiene un papel primordial en moldear las respuestas inmunoadaptativas de los linfocitos T colaboradores.

Vías de transducción de señales

Los receptores de la superficie celular reciben las señales iniciales que activan respuestas complejas del inmunosistema innato. El siguiente paso, la transmisión de señales al interior de la célula o **transducción de señales**, es un tema universal en los sistemas biológicos y un área de intensa investigación en muchos campos más allá de la inmunología. La respuesta a las señales requiere de tres elementos: la señal misma, un receptor, y una **vía de transducción de señales** que conecte los mecanismos detector y efector.

Señal ⟶ receptor ⟶
transducción de señales ⟶ mecanismo efector

Esta vía general se ilustra en la figura 1-6.

En el caso de la inmunidad innata, la señal será un producto microbiano, el receptor un PRR sobre un leucocito, y la señal será transducida por las interacciones de moléculas intracelulares específicas. El mecanismo efector —la acción que ocurre como consecuencia de la señal— da por resultado la eliminación del microorganismo invasor. La señalización y sus consecuencias son un tema recurrente en inmunología. Aquí se delinean algunas características generales de las vías de transducción de señales, seguidas del ejemplo de la transducción de señales a través de TLR.

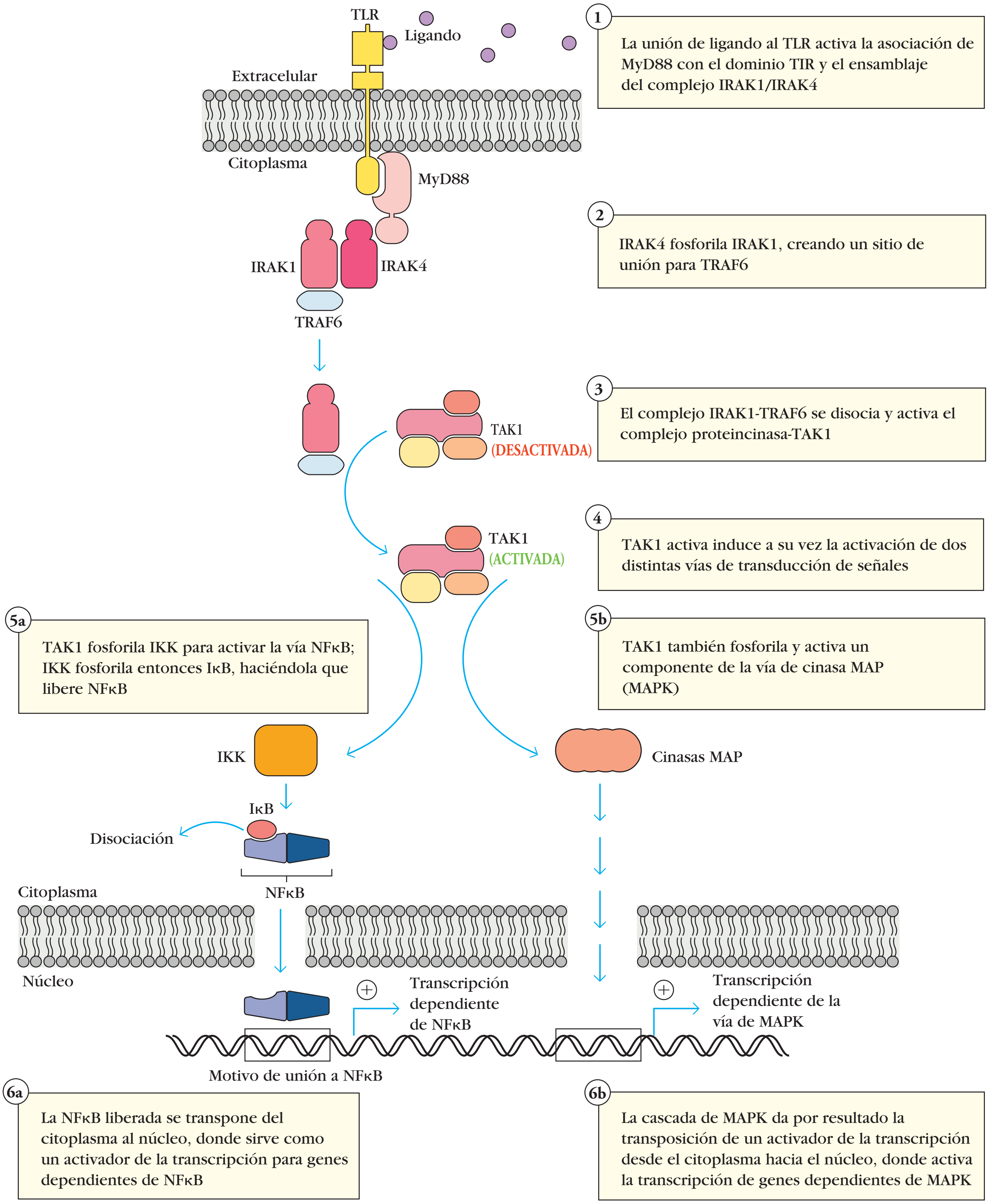
La señalización por TLR es típica de las vías de transducción de señales

Los TLR y sus funciones en la inmunidad innata se descubrieron apenas hace poco, aunque las principales vías de transducción de señales usadas por estos receptores ya se habían dilucidado. Aquí se examina una de tales vías (fig. 3-14) usada por varios TLR, la cual puede servir como ejemplo de las vías de señalización de otros receptores de la inmunidad innata que se enumeran en el cuadro 3-3, todos los cuales siguen un esquema general similar. La vía que se considera enseguida da por resultado la inducción de varias características distintivas de la inmunidad innata, incluida generación de quimiocinas y citocinas inflamatorias, generación de péptidos antimicrobianos, etcétera.

- *Inicio por interacción de la señal con el receptor:* los productos microbianos se unen a la parte extracelular del TLR (fig. 3-10). En el lado citoplásmico, un dominio proteínico separado contiene los motivos estructurales del TIR altamente conservados presentes en las moléculas de señalización de animales y plantas. El dominio TIR ofrece sitios de unión para otros componentes de la vía.
- *Montaje de los componentes de la vía inducido por señales, participación de una molécula adaptadora:* las proteínas adaptadoras, que a su vez contienen dominios TIR, interactúan con los dominios TIR de los TLR. La proteína adaptadora más común para TLR es MyD88, la cual promueve la asociación de dos proteincinasas, IRAK1 e IRAK4.
- *Fosforilación mediada por proteincinasa:* la proteincinasa IRAK4, del complejo IRAK1:IRAK4, fosforila a su compañera, IRAK1. El fosfato recién unido constituye un sitio de unión en IRAK1 para TRAF6, que se une y luego se disocia en compañía de IRAK1 para formar un complejo intermedio IRAK1:TRAF6. Otra proteincinasa, TAK1, une este complejo con varias otras proteínas, de lo que resulta la activación de la cinasa TAK1.
- *Inicio de una cascada enzimática:* TAK1 es decisiva en la vía porque su actividad de proteincinasa le permite realizar la activación mediada por fosforilación de otros dos módulos de transducción de señales. Uno de éstos es la vía de proteincinasa activada por mitógeno (cinasa MAP, del inglés m*itogen-activated protein kinase*), y el otro es la vía de NFκB (véase más adelante). Las vías de cinasa MAP son cascadas enzimáticas de transducción de señales presentes en muchos tipos celulares y conservadas en toda una gama de eucariotes que va de las levaduras al ser humano. El producto final de la cascada ingresa en el núcleo y promueve la fosforilación de uno o más factores de transcripción, que luego influyen en el ciclo o la diferenciación celulares.

TAK1 también fosforila la proteincinasa IKK, lo que es el paso clave en la activación de la vía de NFκB. NFκB es un potente factor de transcripción cuya actividad es inhibida por la forma desfosforilada de una proteína citoplásmica, IκB. La NFκB unida a IκB desfosforilada sufre secuestro en el citoplasma. La IKK fosforila IκB, causando la liberación de NFκB, que entonces puede migrar al núcleo.

La NFκB presente en el núcleo inicia la transcripción de muchos genes necesarios para las funciones efectoras de la inmunidad innata. En los vertebrados, las vías dependientes de NFκB generan citocinas, moléculas de adhesión y otros efectores de la inmunorreacción innata. La NFκB también participa en algunas


TLR
Ligando
Extracelular
Citoplasma
MyD88
IRAK1
IRAK4
TRAF6
TAK1
(DESACTIVADA)
TAK1
(ACTIVADA)
IKK
Cinasas MAP
IκB
Disociación
NFκB
Citoplasma
Núcleo
Transcripción dependiente de NFκB
Transcripción dependiente de la vía de MAPK
Motivo de unión a NFκB

(1) La unión de ligando al TLR activa la asociación de MyD88 con el dominio TIR y el ensamblaje del complejo IRAK1/IRAK4

(2) IRAK4 fosforila IRAK1, creando un sitio de unión para TRAF6

(3) El complejo IRAK1-TRAF6 se disocia y activa el complejo proteincinasa-TAK1

(4) TAK1 activa induce a su vez la activación de dos distintas vías de transducción de señales

(5a) TAK1 fosforila IKK para activar la vía NFκB; IKK fosforila entonces IκB, haciéndola que libere NFκB

(5b) TAK1 también fosforila y activa un componente de la vía de cinasa MAP (MAPK)

(6a) La NFκB liberada se transpone del citoplasma al núcleo, donde sirve como un activador de la transcripción para genes dependientes de NFκB

(6b) La cascada de MAPK da por resultado la transposición de un activador de la transcripción desde el citoplasma hacia el núcleo, donde activa la transcripción de genes dependientes de MAPK

FIGURA 3-14 Una vía típica de transducción de señales por TLR. Abreviaturas: MyD88, proteína 88 de respuesta primaria y diferenciación mieloide; IRAK, cinasa relacionada con IL-1R; IL-1R, receptor de interleucina 1; TRAF6, factor 6 relacionado con receptor de factor de necrosis tumoral; TAK1, cinasa 1 activada por factor β de crecimiento transformante; MAPK, proteincinasa activada por mitógeno; IκB, inhibidor de factor nuclear NFκB; IKK, cinasa de IκB.

vías de transducción de señales clave de células T y B, y por tanto reviste importancia en la inmunidad adaptativa.

La activación de vías de señalización por TLR tiene muchos efectos. Promueve la expresión de genes que contribuyen a la inflamación, induce cambios en células presentadoras de antígeno que las hacen más eficientes para la presentación de antígeno, y causa la síntesis y exportación de moléculas de señalización intercelular las cuales influyen en el comportamiento de los leucocitos y otras células. La participación de TLR puede aumentar la actividad fagocítica de macrófagos y neutrófilos y cambiar su fisiología de manera que incrementan su capacidad de matar y eliminar patógenos. En sistemas no vertebrados, la señalización por TLR activa una variedad de sistemas eficaces de inmunidad. La mayoría de los TLR emplean la vía de transducción de señales que se esquematiza en la figura 3-14. TLR3 usa una vía que es independiente de MyD88, y TLR4 emplea tanto la vía antes descrita como la vía independiente de MyD88 utilizada por TLR3.

Ubicuidad de la inmunidad innata

La búsqueda decidida de anticuerpos y células T y B en especies de los fila de invertebrados no ha podido encontrar ningún indicio de estas características distintivas de la inmunidad adaptativa. Así que a pesar de su prominencia en el sistema inmunitario de los vertebrados, sería un error concluir que estas extraordinarias moléculas y versátiles células son esenciales para la inmunidad. Los espacios interiores de organismos tan diversos como la ascidia (un cordado sin columna vertebral), la mosca de la fruta y el tomate no albergan masivas poblaciones microbianas. En estudios cuidadosos de estos organismos y muchos otros representantes de los fila de invertebrados se han observado sistemas bien desarrollados de inmunidad innata. Pruebas crecientes llevan a la conclusión de que algún sistema de inmunidad protege a todos los organismos multicelulares de la infección y la explotación por microorganismos. El genoma de la ascidia *Ciona intestinalis* (fig. 3-15a) codifica muchos de los genes vinculados con la inmunidad innata, incluyendo los de las lectinas tipo complemento y de los receptores tipo Toll. En la mosca de la fruta, una vía en que participa un miembro de la familia NFκB es activada por infecciones por bacterias gramnegativas, lo que lleva a la producción de diptericina, un potente péptido antibacteriano. Además de estas vías, *Drosophila* y otros artrópodos tienen estrategias diversas de inmunidad innata, que incluyen la activación de cascadas de profenoloxidasa que da por resultado el depósito de melanina alrededor de microorganismos invasores. El tomate, *Lycopersicon esculentum* (fig. 3-15b), como otras plantas, ha desarrollado un repertorio de inmunodefensas innatas para protegerse contra las infecciones. Esto incluye explosiones oxidativas, aumento del pH interno, muerte localizada de regiones infectadas, e inducción de diversas proteínas, incluidas enzimas capaces de digerir las paredes celulares de hongos invasores (quitinasas) o de bacterias (α-1,3-glucanasa). Las plantas también reaccionan a la infección produciendo una amplia variedad de péptidos antibacterianos, así como pequeñas moléculas orgánicas no peptídicas, como las fitoalexinas, que tienen actividad antibiótica. Las mutaciones que interrumpen la síntesis de fitoalexinas dan por resultado la pérdida de resistencia a muchos patógenos de los vegetales. En algunos casos, la respuesta de las plantas a éstos incluso va más allá de un ataque químico e incluye una respuesta estructural, en que la planta aísla las células del área infectada reforzando las paredes de las células circundantes. En el cuadro 3-4 se comparan las capacidades de los sistemas inmunitarios en una amplia gama de organismos multicelulares, tanto animales como plantas.

a)

b)

FIGURA 3-15 Inmunidad innata en especies de distintos reinos. a) Ascidias, cordados no vertebrados. b) Un miembro del reino de las plantas, el tomate. *[Parte a, Gary Bell/Getty Images; parte b, George Glod, SuperStock.]*

CUADRO 3-4 **Inmunidad en organismos multicelulares**

Grupo taxonómico	Inmunidad innata (inespecífica)	Inmunidad adaptativa (específica)	Enzimas y cascadas enzimáticas protectoras inducidas por invasión	Fagocitosis	Péptidos anti-microbianos	Receptores de reconocimiento de patrón	Rechazo del injerto	Células T y B	Anti-cuerpos
Plantas superiores	+	–	+	–	+	+	–	–	–
Invertebrados									
Poríferos (esponjas)	+	–	?	+	?	?	+	–	–
Anélidos (lombrices)	+	–	?	+	?	?	+	–	–
Artrópodos (insectos, crustáceos)	+	–	+	+	+	+	?	–	–
Vertebrados									
Elasmobranquios (peces cartilaginosos, p. ej., tiburones, mantarrayas)	+	+	+	+	Agentes equivalentes	+	+	+	+
Peces teleósteos y óseos (p. ej., salmón, atún)	+	+	+	+	Probables	+	+	+	+
Anfibios	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Reptiles	+	+	+	+	?	+	+	+	+
Aves	+	+	+	+	?	+	+	+	+
Mamíferos	+	+	+	+	+	+	+	+	+

CLAVE: + = demostración definitiva; – = no se ha demostrado hasta la fecha; ? = aún es necesario establecer la presencia o ausencia.

FUENTES: M. J. Flajnik, K. Miller y L. Du Pasquier, 2003, "Origin and Evolution of the Vertebrate Immune System", en *Fundamental Immunology,* 5th ed., W. E. Paul (ed.), Lippincott, Philadelphia; M. J. Flajnik y L. Du Pasquier, 2004, *Trends in Immunology* **25**:640.

RESUMEN

- Dos sistemas de inmunidad protegen a los vertebrados: la inmunidad innata, que se encuentra activada o lista para ser activada antes de la infección, y la inmunidad adaptativa, que es inducida por la infección y requiere de días a semanas para reaccionar.
- Los receptores de la inmunidad innata reconocen patrones moleculares relacionados con patógeno (PAMP), que son motivos moleculares presentes en los microorganismos. En contraste, los receptores de la inmunidad adaptativa reconocen detalles específicos de la estructura molecular.
- Los receptores de la inmunidad innata están codificados en la línea germinal del hospedador, pero los genes que codifican anticuerpos y receptores de célula T, característicos estos últimos de la inmunidad adaptativa, se forman por un proceso de recombinación genética.
- Las reacciones inmunitarias adaptativas poseen memoria, pero no así las reacciones innatas.
- Piel y mucosas constituyen una barrera anatómica altamente eficaz para proteger contra la infección.
- La inflamación incrementa la permeabilidad vascular, lo que permite a los mediadores solubles de la defensa como complemento, lectina de unión a manosa (MBL), proteína C reactiva (CRP) y anticuerpos ulteriores llegar al sitio infectado. Además, la inflamación causa la migración de fagocitos y células antivíricas por extravasación y quimiotaxis al foco de infección.
- Los péptidos antimicrobianos son importantes efectores de la inmunidad innata y se han detectado en una amplia variedad de especies. Destruyen muchos microorganismos distintos, a menudo al romper la membrana microbiana.
- Muchas citocinas son generadas por el sistema inmunitario innato. Estas citocinas incluyen interferones tipo 1, con efectos antivíricos, y otras, como TNF-α e interferón γ, que ejercen intensos efectos en otras células y órganos.
- Determinadas citocinas inducen una reacción de fase aguda, un proceso durante el cual varias proteínas antimicrobianas se liberan del hígado al torrente sanguíneo. Entre estas proteínas se encuentran MBL, CRP y complemento, capaces de destruir microorganismos.
- El sistema inmunitario innato emplea receptores de reconocimiento de patrones (PRR) para detectar infección. Los

receptores tipo Toll (TLR) son una categoría importante de PRR; cada TLR detecta un subconjunto distinto de patógenos, y el repertorio completo puede detectar una amplia gama de virus, bacterias, hongos y protozoarios.

- Los fagocitos emplean diversas estrategias para destruir patógenos. Estas estrategias incluyen proteínas citolíticas, péptidos antimicrobianos y la generación de especies reactivas de oxígeno (ROS) y especies reactivas de nitrógeno (RNS).
- Las células dendríticas son un puente celular clave entre la inmunidad adaptativa y la innata. Los componentes microbianos adquiridos durante la respuesta innata por las células dendríticas son llevados del sitio de infección a los ganglios linfáticos, y las moléculas MHC exhiben antígenos microbianos y los presentan a linfocitos T; el resultado es que éstos son activados y se produce una inmunorreacción adaptativa.
- Los TLR usan vías de transducción de señales comunes a las que se encuentran en todo el reino vegetal y el animal. La señalización por TLR inicia sucesos que capacitan a las células para controlar y eliminar infecciones.
- La inmunidad innata apareció en una fase temprana de la evolución de los organismos multicelulares y se ha observado en todas las plantas y animales examinados a la fecha. La inmunidad adaptativa se encuentra sólo en vertebrados.

Bibliografía

Akira, S., and K. Takeda. 2004. Toll-like receptor signaling. *Nature Reviews Immunology* **4:**499.

Basset, C., et al. 2003. Innate immunity and pathogen-host interaction. *Vaccine* **21:**s2/12.

Beutler, B., and E.T. Rietschel. 2003. Innate immune sensing and its roots: the story of endotoxin. *Nature Reviews Immunology* **3:**169.

Bulet, P., R. Stocklin, and L. Menin. 2004. Antimicrobial peptides: from invertebrates to vertebrates. *Immunological Reviews* **198:**169.

Fang, F. C. 2004. Antimicrobial reactive oxygen and nitrogen species: concepts and controversies. *Nature Reviews Microbiology* **2:**820.

Iwasaki, A., and R. Medzhitov. 2004. Toll-like receptor control of the adaptive immune responses. *Nature Immunology* **5:**987.

Lemaitre, B. 2004. The road to Toll. *Nature Reviews Immunology* **4:**521.

Medzhitov, R., et al. 1997. A human homologue of the Toll protein signals activation of adaptive immunity. *Nature* **388:**394.

O'Neill, A. J. 2005. Immunity's early warning system. *Scientific American* **292:**38.

Pai, J. K., et al. 2004. Inflammatory markers and the risk of coronary heart disease in men and women. *New England Journal of Medicine* **351:**2599.

Poltorak, A., et al. 1998. Defective LPS signaling in C3Hej and C57BL/10ScCr mice: mutations in TLR4 gene. *Science* **282:**2085.

Ridiker, P.M., et al. 2005. C-reactive protein and outcomes after statin therapy. *New England Journal of Medicine* **352:**20.

Ulevitch, R. J. 2004. Therapeutics targeting the innate immune system. *Nature Reviews Immunology* **4:**512.

Sitios útiles de la red

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed/
PubMed, la base de datos de la National Library of Medicine, con más de 15 millones de publicaciones, es la más amplia en el mundo para bibliografía biológica y biomédica. También es un sitio muy fácil de utilizar.

http://cpmcnet.columbia.edu/dept/curric-pathology/pathology/pathology/pathoatlas/GP_I_menu.html
Se muestran imágenes de las principales células inflamatorias que intervienen en la inflamación aguda y crónica, así como ejemplos de enfermedades inflamatorias específicas.

http://animaldiversity.ummz.umich.edu/site/index.html
La Animal Diversity Web (ADW), en la University of Michigan, es una excelente base de datos exhaustiva de clasificación animal y una fuente de información sobre historia natural y evolución de los animales. Incluye un sitio con información sobre animales aparte del ser humano y el ratón.

Preguntas de estudio

PREGUNTA DE ENFOQUE CLÍNICO Comente sobre el papel de los procesos inflamatorios en el desarrollo y el avance de la aterosclerosis. ¿Cómo podría la inflamación elevar las concentraciones de CRP?

1. La inmunidad innata colabora con la inmunidad adaptativa para proteger al hospedador. Analice esta colaboración, mencionando puntos clave de interacción entre los dos sistemas.

2. ¿Cuáles son las características distintivas de una respuesta inflamatoria localizada? ¿Cómo contribuyen estas características al establecimiento de una inmunorreacción innata eficaz?

3. Utilice la siguiente lista para completar los enunciados que siguen. Algunos términos pueden usarse más de una vez.

Interferón
NO
TLR2
TNF-α
Células NK
TLR4
NOD
Moléculas MHC clase I
Fagocitosis
iNOS
Moléculas coestimulatorias
Inmunidad adaptativa
PRR
TLR7
Célula dendrítica
T$_H$
Arginina
MBL

Péptidos antimicrobianos
TLR8
Oxidasa fagosómica de NADPH
Anticuerpo
PAMP
O$_2$
Complemento
Moléculas MHC clase II
CRP
Receptores de célula T
Inmunidad innata
APR
ROS
RNS
TLR9
T$_C$
Citocinas proinflamatorias
NADPH

a. Tanto _____________, una citocina, como las células _________________ protegen contra infecciones víricas.

b. La enzima _____________ utiliza los aminoácidos __________ y _________ para generar _____________, un gas antimicrobiano.

c. La enzima _____________ utiliza _____________ para generar _____________, microbicidas, que puede combinarse con el gas antimicrobiano _____________ para producir _____________, que también son microbicidas.

d. Durante la respuesta innata, una célula conocida como _____________ captura antígeno y lo exhibe en _____________ y _____________ para su presentación a células _____________ y _____________ cuando la _____________ migra de los tejidos a un ganglio linfático.

e. _____________ y _____________ son receptores de reconocimiento de patrón que pueden activar el complemento y facilitar la opsonización.

f. La _____________ ocurre cuando _____________ tales como la _____________ y la _____________ se generan por inflamación y llegan al hígado.

g. Algunas células utilizan _____________ y _____________ para detectar infecciones por virus de RNA y _________ para detectar infecciones por bacterias y algunos virus de DNA.

h. Los _____________, los receptores de la inmunidad innata, se codifican en la línea germinal, pero _____________ y _____________, los receptores característicos de la inmunidad adaptativa, son codificados por genes que surgen por recombinación somática.

i. Las células dendríticas, que tienen _____________, exhiben antígeno tanto en _____________ como en _____________ y por tanto son activadores eficientes de las células T colaboradoras y citotóxicas.

j. El _____________ es un _____________ intracelular que detecta componentes de la pared celular bacteriana.

k. Los _____________ son receptores de la inmunidad innata que detectan _____________.

l. El _____________ detecta infecciones por bacterias gramnegativas y el _____________ detecta infecciones por bacterias grampositivas.

m. Determinados componentes de la pared celular microbiana son capaces de activar el _____________, lo cual desencadena la opsonización y el daño a la membrana plasmática del patógeno.

Para usarse con la pregunta 7

Tratamiento o modificación experimental	Inducción de inmunidad adaptativa	Extravasación de leucocitos	Reacción de fase aguda	Inducción de lisis mediada por complemento	Inducción de inflamación	ROS y RNS
a. Inyección de anticuerpos que bloquean las interacciones integrina-ICAM						
b. Desactivación del gen que codifica el TLR4						
c. Anticuerpos que neutralizan TNF-α e IL-1						
d. Mutación en la enzima phox						
e. Ratones con desactivación del gen que codifica las moléculas MHC clase II						

Justificaciones de las predicciones del lector

a. ____

b. ____

c. ____

d. ____

e. ____

4. ¿Cuáles fueron las dos observaciones experimentales que vincularon los TLR con la inmunidad innata?

5. Cuando la inmunidad adaptativa surgió por evolución en los vertebrados, el sistema de inmunidad innata, más antiguo, se retuvo. ¿Se le ocurren algunas desventajas de poseer un doble sistema de inmunidad? ¿Podría afirmar que alguno de ellos es más esencial?

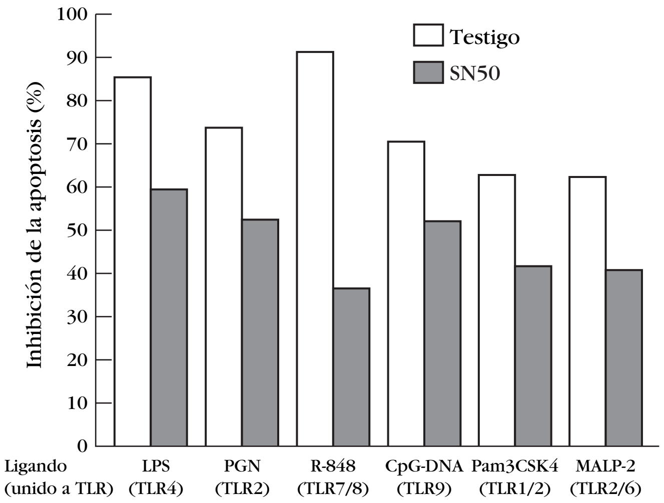
6. ¿Cómo podría un artrópodo, como una cucaracha o un escarabajo, protegerse contra una infección micótica? Compare las inmunorreacciones de un artrópodo y del ser humano.

7. ¿Qué efectos tendrían los tratamientos o modificaciones experimentales mostrados en el cuadro adjunto sobre las reacciones indicadas en un hospedador humano o murino a la primera infección por una bacteria grampositiva? Justifique cada una de sus respuestas.

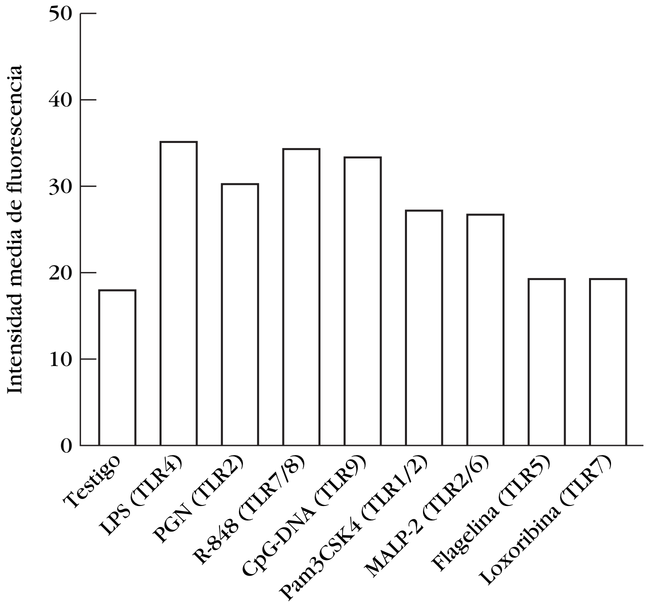
ANALICE LOS DATOS François y colaboradores (*J. Immunol* 2005, **174:**363) investigaron los efectos de los agonistas del receptor tipo Toll (TLR) sobre la apoptosis de neutrófilos, que constituyen la mayor población de glóbulos blancos y tienen la función de ser los primeros en reaccionar contra las bacterias. Aunque los neutrófilos son de existencia breve, tienen un papel crítico en la inmunidad innata al actuar en el tejido infectado, donde defienden al hospedador formando especies reactivas de oxígeno, enzimas proteolíticas y otros productos antimicrobianos. François y colaboradores incubaron neutrófilos con SN50, un inhibidor de NFκB, o un testigo. Después trataron las muestras con agonistas de TLR y determinaron una medida de la inhibición de la apoptosis (parte a de la figura de abajo). También examinaron una vía de transducción de señales activada por la unión de ligando de TLR (parte b de la misma figura). Conteste las siguientes preguntas con base en los datos que se muestran y lo que ha aprendido en este libro.

a. ¿Afecta la unión de los receptores TLR el tiempo de vida de los neutrófilos? ¿Por qué es esto una ventaja para el hospedador? ¿Por qué podría ser una desventaja?
b. Si un ratón mutante tiene un defecto en la IKK (cinasa de IκB), ¿predeciría el lector una vida media mayor o menor de los neutrófilos? (*Sugerencia:* Vea la fig. 3-14.)
c. ¿Cuáles moléculas de TLR usan una vía de transducción de señales distinta de la que usa TLR4? Suponga que los agonistas empleados en el estudio son apropiados. Explique su respuesta.

a) Efecto de la participación de TLR en la apoptosis



b) Cantidad de fosfo-IKK después de la participación de TLR, medida por citometría de flujo



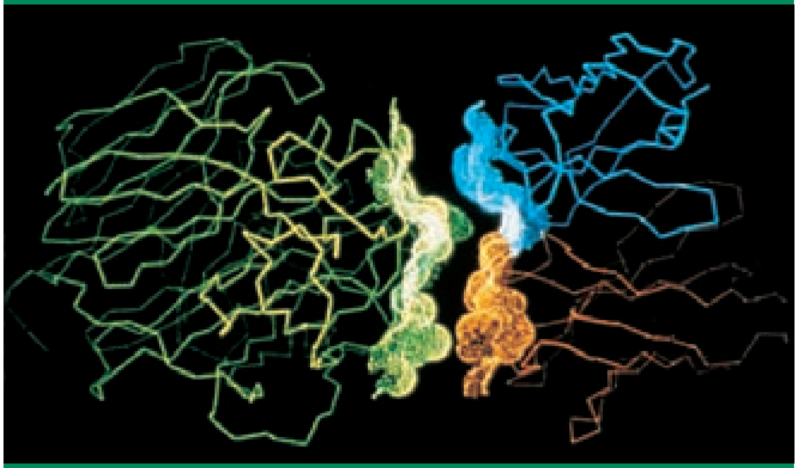
capítulo 4

Antígenos y anticuerpos

Las moléculas emblemáticas del sistema inmunitario adaptativo son el anticuerpo y el receptor de célula T. Mientras que los componentes de la inmunidad innata están programados para el reconocimiento de patrones moleculares y por tanto identifican características compartidas por grupos de moléculas extrañas, las moléculas de anticuerpo y las de receptor de célula T exhiben un mayor grado de especificidad, al reconocer **determinantes antigénicos** o **epítopos** específicos. Los epítopos son las regiones con actividad inmunitaria de un inmunógeno que se unen a receptores de membrana específicos de antígeno en los linfocitos o a anticuerpos secretados. Los anticuerpos son proteínas de unión a epítopo que existen en dos formas, como constituyentes unidos a membrana de las células B o como moléculas solubles secretadas por células plasmáticas. Los anticuerpos unidos a membrana confieren especificidad antigénica en las células B; la proliferación de clonas de células B específicas de antígeno es inducida por la interacción de anticuerpo de membrana con antígeno. Los anticuerpos secretados circulan en la sangre, donde actúan como efectores de la inmunidad **humoral** al buscar antígenos y marcarlos para su eliminación. Todos los anticuerpos comparten características estructurales, se unen a antígeno y participan en cantidad limitada de **funciones efectoras**. El receptor de célula T expresado en la membrana superficial de dicha célula sólo reconoce fragmentos de antígeno procesados que se han integrado en un complejo con moléculas MHC. Si bien en este capítulo se hace hincapié en el anticuerpo y la naturaleza del reconocimiento de antígeno por la célula B, se harán comparaciones con el reconocimiento de antígeno por la célula T para desarrollar los temas generales de la antigenicidad e ilustrar el contraste entre las interacciones de linfocitos T y B con los antígenos. En los capítulos 8 y 9 se cubren las características moleculares de las moléculas MHC, el modo en que los antígenos son procesados y unidos a moléculas MHC, y la naturaleza de los receptores de célula T que reconocen complejos antígeno-MHC.

En general, la población de anticuerpos producidos en respuesta a un estímulo antigénico específico es heterogénea. La mayoría de los antígenos es estructuralmente compleja y contiene muchos epítopos distintos, y el sistema inmunitario suele reaccionar produciendo anticuerpos contra varios de los epítopos presentes en el antígeno. En otras palabras, varias clonas distintas de células B son estimuladas y proliferan. La producción de las células plasmáticas de una misma clona de células B es un anticuerpo monoclonal que se une de manera específica a un mismo determinante antigénico. Juntos, los productos secretados por todas las clonas de células B estimuladas, el grupo de anticuerpos monoclonales, constituyen la respuesta de anticuerpos séricos policlonales y heterogéneos a un antígeno inmunizante.

Los miembros de la familia de proteínas de anticuerpo tienen características estructurales en común y se conocen de manera colectiva como **inmunoglobulinas (Ig)**. Y a pesar de sus semejanzas, los miembros de esta familia realizan un conjunto increíblemente diverso de funciones de unión así como varias funciones efectoras bien definidas después de la unión a antígeno. Antes de explorar la estructura y la complejidad de la familia de anticuerpos, en este capítulo se analizarán la naturaleza de los antígenos y los conceptos y características de las sustancias inmunógenas.



Complementariedad entre anticuerpo y antígeno del virus de la gripe (amarillo). [Basado en datos de cristalografía con rayos X obtenidos por P. M. Colman y W. R. Tulip; tomado de G. J. V. H. Nossal, 1993, **Scientific American** ***269(3):22.]***

- Inmunogenicidad y antigenicidad
- Epítopos
- Estructura básica y función de los anticuerpos
- Sitio de unión de anticuerpos
- Funciones efectoras mediadas por anticuerpo
- Clases de anticuerpos y actividades biológicas
- Determinantes antigénicos en inmunoglobulinas
- Receptor de célula B
- Superfamilia de las inmunoglobulinas
- Anticuerpos monoclonales

Los antígenos se definen de manera específica como moléculas que interactúan con el receptor de inmunoglobulina de las células B (o con el receptor de célula T cuando se encuentra en forma de complejo con MHC). Las propiedades moleculares de los antígenos y el modo en que estas propiedades contribuyen a la activación inmunitaria son fundamentales para comprender el sistema inmunitario. En este capítulo se describen las características moleculares de los antígenos que son reconocidos por anticuerpos y se explora la contribución que el sistema biológico del hospedador hace a la inmunogenicidad.

Inmunogenicidad y antigenicidad

Inmunogenicidad y antigenicidad son propiedades inmunitarias relacionadas pero distintas que a veces se confunden. La **inmunogenicidad** es la capacidad de inducir una respuesta inmunitaria humoral o mediada por células, o ambas:

Células B + antígeno → células B efectoras + células B de memoria
↓
Célula plasmática → secreta anticuerpo

Células T + antígeno → células T efectoras + células T de memoria
↓
CTL, T_H, etc. → secretan citocinas y factores citotóxicos

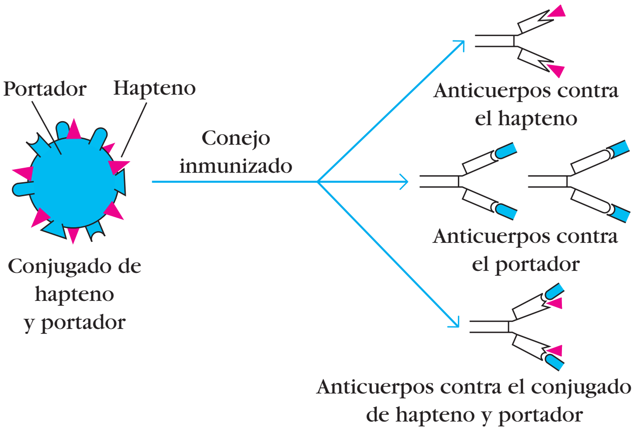
Aunque una sustancia que induce una reacción inmunitaria específica suele llamarse antígeno, es más apropiado denominarla **inmunógeno**.

La **antigenicidad** es la capacidad de combinarse de manera específica con los productos finales de las respuestas anteriores (es decir, anticuerpos secretados, receptores de superficie en las células T, o ambos). Si bien todas las moléculas que tienen inmunogenicidad también poseen antigenicidad, no sucede lo contrario. Algunas moléculas pequeñas, llamadas **haptenos**, son antigénicas pero incapaces de inducir por sí mismas una reacción inmunitaria específica. En otras palabras, carecen de inmunogenicidad.

Los haptenos son valiosos instrumentos de investigación y diagnóstico

El acoplamiento químico de un hapteno a una proteína inmunógena grande, llamada **portador**, genera un **conjugado hapteno-portador** inmunógeno. Los animales inmunizados con tal conjugado producen anticuerpos específicos para tres tipos de determinantes antigénicos: 1) el determinante hapteno, 2) epítopos inalterados en la proteína portadora y 3) nuevos epítopos formados por regiones tanto del hapteno como de la molécula portadora en combinación (fig. 4-1). Por sí mismo, un hapteno no puede funcionar como epítopo inmunógeno. Pero cuando múltiples moléculas de un mismo hapteno se acoplan a una proteína portadora (o incluso a un homopolímero no inmunógeno), el hapteno queda accesible para el sistema inmunitario y puede actuar como inmunógeno.

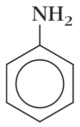
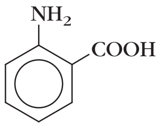
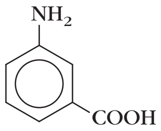
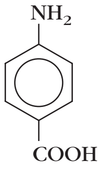
Además de mostrar la amplia gama de epítopos que pueden encontrarse en un inmunógeno individual, el sistema hapteno-portador constituye un instrumento que permite a los inmunólogos sondear los efectos de pequeñas variaciones en las estructuras químicas sobre la especificidad inmunitaria. El hapteno puede ser un determinante químicamente definido que luego es modificado de manera sutil por medios químicos para dilucidar si ello incide en el reconocimiento por anticuerpos. Una ilustración clásica de esta estrategia se observa en el trabajo pionero de Karl Landsteiner, quien en los decenios de 1920 y 1930 creó un sistema simple químicamente definido para estudiar la unión de un anticuerpo individual. Landsteiner empleó como haptenos pequeñas moléculas orgánicas que son antigénicas pero *no* inmunógenas. En sus estudios, Landsteiner inmunizó conejos con conjugado hapteno-portador y luego comparó la reactividad de los sueros inmunes de los conejos con la del hapteno y la de haptenos estrechamente relacionados acoplados a una proteína portadora distinta. Entonces estuvo en posibilidad de medir de manera específica la reacción de los anticuerpos antihapteno en el suero inmune y no la de los anticuerpos contra los epítopos portadores originales. Landsteiner examinó si un anticuerpo antihapteno podía unirse a otros haptenos con estructura química ligeramente distinta. Si ocurría la unión, se le llamaba **reacción cruzada**. Observando cuáles modificaciones del hapteno impedían o permitían reacciones cruzadas, Landsteiner obtuvo información sobre la especificidad de las interacciones antígeno-anticuerpo.


Portador
Hapteno
Conejo inmunizado
Conjugado de hapteno y portador
Anticuerpos contra el hapteno
Anticuerpos contra el portador
Anticuerpos contra el conjugado de hapteno y portador

Inyección de:	Anticuerpos formados:
Hapteno (DNP)	Ninguno
Portador proteínico (BSA)	Anti-BSA
Conjugado de hapteno y portador (DNP-BSA)	Anti-DNP (mayor) Anti-BSA (menor) Anti-DNP/BSA (menor)

FIGURA 4-1 Un conjugado de hapteno y portador es el inmunógeno en esta ilustración, y el hapteno es un antígeno que por sí mismo no resulta inmunógeno. El inmunógeno contiene múltiples copias del hapteno —un compuesto orgánico no inmunógeno pequeño, en este caso dinitrofenol (DNP)— relacionado desde el punto de vista químico con una proteína portadora grande, como la albúmina sérica bovina (BSA). La inmunización con DNP solo no activa anticuerpos anti-DNP, pero la inmunización con DNP-BSA da lugar a tres tipos de anticuerpo. De ellos, predomina el anticuerpo anti-DNP, lo que indica que en este caso el hapteno es el epítopo inmunodominante o determinante antigénico, como sucede con frecuencia en estos conjugados.

CUADRO 4-1 Reactividad de antisueros con diversos haptenos

	REACTIVIDAD CON			
				
Antisuero contra	**Aminobenceno (anilina)**	**Ácido *o*-aminobenzoico**	**Ácido *m*-aminobenzoico**	**Ácido *p*-aminobenzoico**
Aminobenceno	+	0	0	0
Ácido *o*-aminobenzoico	0	+	0	0
Ácido *m*-aminobenzoico	0	0	+	0
Ácido *p*-aminobenzoico	0	0	0	+

CLAVE: 0 = sin reactividad; + = reactividad potente.

FUENTE: basado en K. Landsteiner, 1962. *The specificity of serologic reactions*, 1962, Dover Press. Modificado por J. Klein, 1982, *Immunology: The science of self-nonself discrimination*, Wiley.

Al usar diversos derivados del aminobenceno como haptenos, Landsteiner observó que la configuración global de un hapteno tiene un papel importante para determinar si podrá reaccionar con un anticuerpo dado. Por ejemplo, el antisuero de conejos inmunizados con aminobenceno o uno de sus derivados carboxilo (isómeros *orto*, *meta* y *para* del ácido aminobenzoico) acoplado a una proteína sólo reaccionaba con el hapteno inmunizante original pero no presentaba reacción cruzada con ninguno de los otros haptenos (cuadro 4-1). En contraste, si la configuración global del hapteno se mantenía igual y éste se modificaba en la posición para con diversos derivados no iónicos, los antisueros presentaban distintos grados de reactividad cruzada. El trabajo de Landsteiner demostró tanto la especificidad del sistema inmunitario para pequeñas variaciones estructurales en los haptenos como la enorme diversidad de epítopos que dicho sistema es capaz de reconocer.

Muchas sustancias de importancia biológica, incluidos fármacos, hormonas peptídicas y hormonas esteroides, pueden funcionar como haptenos. Es posible usar conjugados de estos haptenos con grandes portadores proteínicos para producir anticuerpos específicos de hapteno. Tales anticuerpos son útiles para medir la presencia de diversas sustancias en el organismo. Por ejemplo, en el estuche original para la prueba casera de embarazo se empleaban anticuerpos antihapteno a fin de determinar si la orina de una mujer contenía gonadotropina coriónica humana (HCG), que es un indicador de embarazo.

Aunque los estudios con conjugados hapteno-portador delinean claramente la diferencia entre los conceptos de antigenicidad e inmunogenicidad, en la práctica deben considerarse múltiples factores para determinar si una sustancia con que el sistema inmunitario se topa inducirá una respuesta. La inmunogenicidad depende no sólo de propiedades intrínsecas del antígeno sino también de varias propiedades del sistema biológico específico con que el antígeno se encuentra y del modo en que se presenta el inmunógeno. En las siguientes secciones se describen las propiedades que la mayoría de los inmunógenos comparten y la contribución que el sistema biológico hace a la expresión de la inmunogenicidad.

Las propiedades del inmunógeno contribuyen a la inmunogenicidad

La inmunogenicidad depende en parte de cuatro propiedades del inmunógeno: alteridad, tamaño molecular, composición y complejidad químicas, y capacidad de ser procesado y presentado con una molécula MHC en la superficie de una célula presentadora de antígeno o una célula propia alterada.

Alteridad

Con el objeto de inducir una respuesta inmunitaria, el sistema biológico debe reconocer una molécula como ajena. El lado opuesto a la capacidad de reconocer lo ajeno es la **tolerancia** de lo propio, una falta de respuesta específica a los antígenos propios (cap. 16). Gran parte de la capacidad de tolerar antígenos propios surge durante el desarrollo de los linfocitos, cuando los linfocitos inmaduros se exponen a componentes propios. Las células que reconocen componentes propios durante este proceso son desactivadas. Las sobrevivientes del proceso se liberan. Los antígenos que no se expusieron a linfocitos inmaduros durante este período crítico pueden ser reconocidos más tarde como ajenos o extraños por el sistema inmunitario. Cuando se introduce un antígeno en un organismo, su grado de inmunogenicidad depende del grado de su alteridad. Por lo general, cuanto mayor es la distancia filogenética entre dos especies, tanto mayor es la disparidad estructural (y por ende la antigénica) entre las moléculas que las constituyen. Por ejemplo, la albúmina sérica bovina (**BSA**, del inglés *bovine serum albumin*), un antígeno experimental común, no es inmunógena cuando se inyecta a una vaca, pero sí lo es en sumo grado si se inyecta a un conejo. Más aún, cabe esperar que la BSA muestre mayor inmunogenicidad en un pollo que en una cabra, que se relaciona más estrechamente con los bovinos. Esta regla tiene algunas excepciones. Ciertas macromoléculas (p. ej., colágena y citocromo *c*) se han

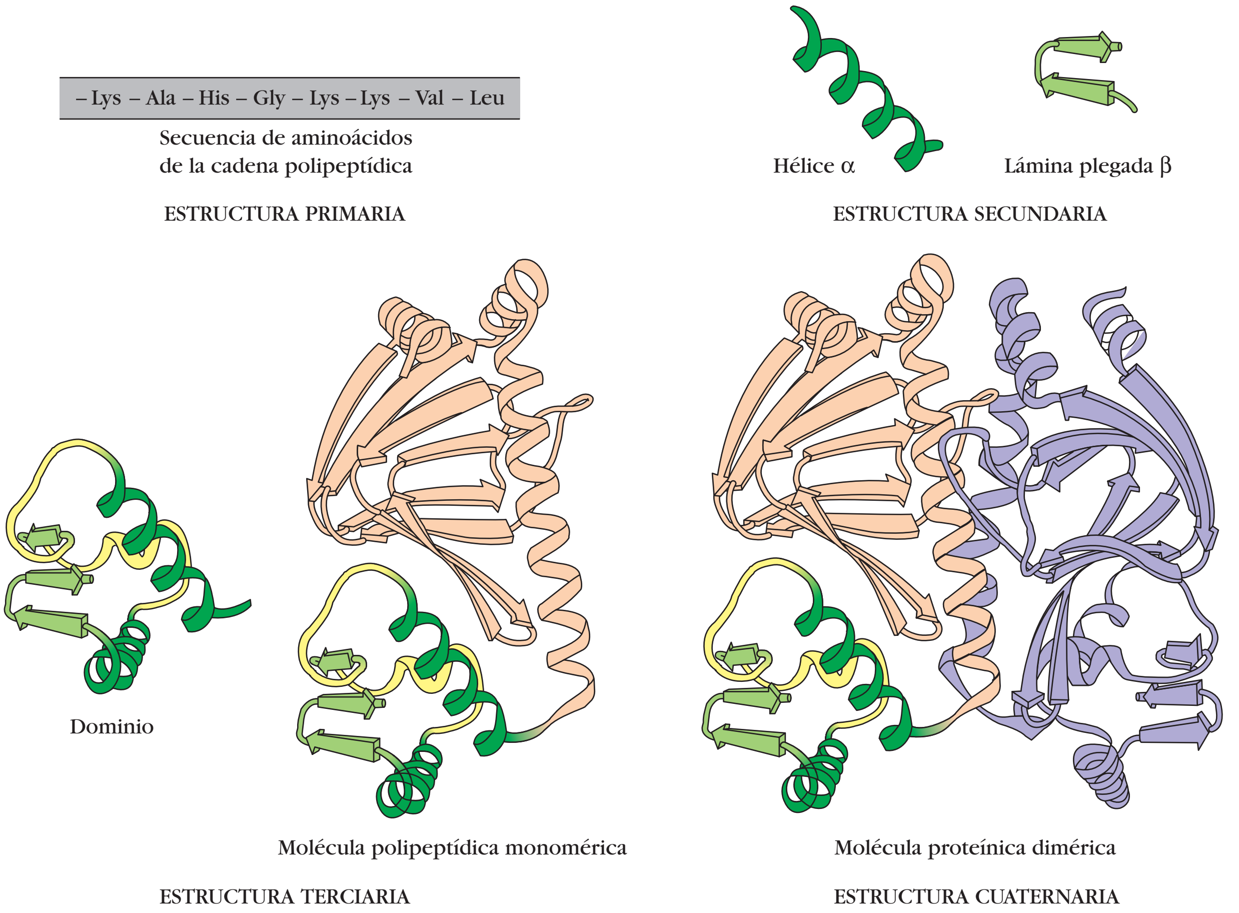

– Lys – Ala – His – Gly – Lys – Lys – Val – Leu
Secuencia de aminoácidos de la cadena polipeptídica
ESTRUCTURA PRIMARIA
Hélice α
Lámina plegada β
ESTRUCTURA SECUNDARIA
Dominio
Molécula polipeptídica monomérica
ESTRUCTURA TERCIARIA
Molécula proteínica dimérica
ESTRUCTURA CUATERNARIA

FIGURA 4-2 Los cuatro niveles de estructura organizacional de las proteínas. La disposición lineal de aminoácidos constituye la estructura primaria. El plegamiento de partes de una cadena polipeptídica en estructuras regulares (p. ej., hélices α y láminas plegadas β) genera la estructura secundaria. La terciaria se refiere al plegamiento de regiones entre características secundarias para dar la forma total de la molécula o partes de ella (dominios) con propiedades funcionales específicas. La estructura cuaternaria resulta de la relación de dos o más cadenas polipeptídicas en una molécula proteínica polimérica única.

conservado en alto grado a través de la evolución, y por tanto muestran muy poca inmunogenicidad entre diversas líneas de especies. Por el contrario, algunos componentes propios (p. ej., tejido corneal y semen) son secuestrados de manera eficaz del sistema inmunitario, de tal manera que si se inyectan estos tejidos incluso en el mismo animal en que se originaron actúan como inmunógenos.

Tamaño molecular

Existe correlación entre el tamaño de una macromolécula y su inmunogenicidad. Los inmunógenos más activos tienden a presentar masa molecular de 100 000 daltons (Da) o más. Por lo regular, las sustancias con masa molecular menor de 5 000 a 10 000 Da son inmunógenas deficientes, aunque se ha demostrado que unas cuantas sustancias con masa molecular menor de 1 000 Da son inmunógenas.

Composición y heterogeneidad químicas

El tamaño y la alteridad no son, por sí mismos, suficientes para que una molécula sea inmunógena; se requieren además otras propiedades. Por ejemplo, los homopolímeros sintéticos (polímeros compuestos por múltiples copias de un aminoácido o un azúcar simple) tienden a carecer de inmunogenicidad sin importar cuál sea su tamaño. Los heteropolímeros suelen ser más inmunógenos que los homopolímeros. Estos estudios muestran que la complejidad química contribuye a la inmunogenicidad. Es notable que los cuatro niveles de organización de las proteínas —primario, secundario, terciario y cuaternario— contribuyen a la complejidad estructural de una proteína y, en consecuencia, a su inmunogenicidad (fig. 4-2).

Cuando se presentan de manera apropiada, los antígenos lípidos pueden inducir reacciones de las células B. Por ejemplo, los lípidos pueden servir como haptenos si se unen a moléculas portadoras adecuadas, como las proteínas hemocianina de lapa (KLH, del inglés *keyhole limpet hemocyanin*) o albúmina sérica bovina (BSA). Mediante la inmunización con estos conjugados de lípido y proteína es posible obtener anticuerpos muy específicos contra los lípidos blanco. Por este método los científicos han creado anticuerpos contra una amplia variedad de moléculas lipídicas, incluidos esteroides, derivados complejos de ácidos grasos y vitaminas liposolubles, como la E. Estos anticuerpos poseen importancia práctica considerable, puesto que muchas valoraciones clínicas para determinar la presencia y cantidad de lípidos de relevancia médica se basan en anticuerpo. Por ejemplo, la cuantificación de los valores de un grupo complejo de lípidos conocido como leucotrienos puede ser útil en la valoración de los pacientes de asma (cap. 15). Los ensayos basados en el uso de anticuerpos antilípido permiten detectar cantidades de leucotrieno C_4 del orden de los picogramos. Debido a que el antileucotrieno C_4 tiene escasa o nula reactividad contra compuestos similares, como leucotrieno D_4 o leucotrieno E_4, puede usarse para detectar leucotrieno C_4 en muestras que contienen este compuesto y varios otros lípidos con relación estructural. Otra aplicación médica importante es la detección de prednisona, un esteroide inmunosupresor que a menudo se administra como parte de un programa para suprimir el rechazo de un órgano trasplantado. El mantenimiento de concentraciones sanguíneas adecuadas de éste y otros fármacos inmunosupresores es importante para el éxito de un trasplante, y los inmunoensayos a base de anticuerpos se usan de manera sistemática para realizar estas evaluaciones.

Susceptibilidad al procesamiento y la presentación de antígeno

El desarrollo de reacciones inmunitarias humorales (mediadas por anticuerpos) y mediadas por células T requiere la interacción de células T con un antígeno procesado y presentado junto con moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad. Las macromoléculas insolubles, grandes, son casi siempre más inmunógenas que las solubles, pequeñas, ya que las primeras se fagocitan y procesan con mayor facilidad. Las macromoléculas que no pueden degradarse y presentarse con moléculas MHC son inmunógenos deficientes. Lo anterior lo ilustran los polímeros de D-aminoácidos, que son estereoisómeros de los L-aminoácidos (que ocurren de manera natural). Debido a que las enzimas degradadoras presentes dentro de las células presentadoras de antígeno sólo pueden degradar proteínas que contienen L-aminoácidos, los polímeros de D-aminoácidos no pueden ser procesados y, por consiguiente, constituyen inmunógenos deficientes.

El sistema biológico contribuye a la inmunogenicidad

Incluso si una macromolécula tiene las propiedades que exige la inmunogenicidad, su capacidad de inducir una reacción inmunitaria depende de ciertos factores del sistema biológico que el antígeno encuentra. Entre los factores que contribuyen a la inmunogenicidad se incluyen constitución genética del hospedador, modo en que se presenta el material, y uso de sustancias (llamadas coadyuvantes) que acentúan la inmunogenicidad.

Genotipo del animal receptor

Un factor importante que determina la reactividad inmunitaria puede ser el **genotipo** del receptor. La constitución genética (genotipo) de un animal inmunizado influye en el tipo de respuesta inmunitaria que manifiesta y, asimismo, en el grado de la reacción. Por ejemplo, Hugh McDevitt demostró que dos diferentes cepas endogámicas de ratones reaccionan de manera muy distinta a un inmunógeno polipeptídico sintético. Una cepa produjo concentraciones altas de anticuerpo sérico, en tanto que la otra cepa tuvo valores bajos. Cuando se cruzaron las dos cepas, la generación F_1 mostró una reacción intermedia al inmunógeno. Mediante retroanálisis cruzado, el gen que controlaba la respuesta inmunitaria se rastreó (mapeó) hasta una subregión del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC; cap. 8). Múltiples experimentos con inmunógenos definidos simples han demostrado el control genético de la reacción inmunitaria, limitado en gran parte a genes propios del MHC. Estos datos indican que los productos génicos MHC, que actúan para presentar antígeno procesado a las células T, tienen un papel central en la determinación del grado al cual responde un animal a un inmunógeno.

Los genes que codifican receptores de células B y T y los que codifican varias proteínas que participan en los mecanismos reguladores inmunitarios también determinan la respuesta de un animal a un antígeno. La variabilidad genética en todos estos genes afecta la inmunogenicidad de una macromolécula específica en diferentes animales. Estas contribuciones genéticas a la inmunogenicidad se analizan con mayor detalle en capítulos posteriores.

Dosis y vía de administración del inmunógeno

Cada inmunógeno experimental muestra una curva de dosis-respuesta particular, que se determina al medir la reacción inmunitaria a diferentes dosis y distintas vías de administración. Una respuesta de anticuerpos se cuantifica determinando la concentración de anticuerpo que existe en el suero de animales inmunizados. Es menos sencillo valorar las reacciones de células T, pero puede intentarse al estimar el incremento de la cifra de células T que portan receptores de célula T (TCR) que reconocen al inmunógeno. Alguna combinación de dosis y vía de administración óptimas inducirá una reacción inmunitaria máxima en un animal particular.

Una dosis insuficiente no estimula una reacción inmunitaria porque no activa suficientes linfocitos o, como ocurre en algunos casos, ciertos intervalos de dosis bajas pueden inducir un estado de falta de respuesta inmunitaria, o tolerancia. Por el contrario, una dosis demasiado alta puede también inducir tolerancia. La reacción inmunitaria de ratones al polisacárido capsular neumocócico purificado ilustra la importancia de la dosis. Una dosis de 0.5 mg de antígeno no genera una inmunorreacción en ratones, en tanto que una dosis mil veces más baja del mismo antígeno (5×10^{-4} mg) provoca una reacción humoral de anticuerpo. Una dosis individual de la mayor parte de los inmunógenos experimentales no activa una respuesta potente; por el contrario, suele ser necesario repetir el suministro durante un lapso de semanas. Estas administraciones repetidas, o **refuerzos**, aumentan la proliferación clonal de células T o B específicas de antígeno y, por consiguiente, aumentan las poblaciones de linfocitos específicos para el inmunógeno.

Por lo general, los inmunógenos experimentales se administran por vía parenteral (*para*, alrededor; *enteron*, intestino), es decir, por otras vías distintas de la oral. Son comunes las siguientes vías de administración:

- Intravenosa (IV): dentro de una vena
- Intradérmica (ID): dentro de la piel
- Subcutánea (SC): debajo de la piel
- Intramuscular (IM): en un músculo
- Intraperitoneal (IP): dentro de la cavidad peritoneal

La vía de administración influye en alto grado en los órganos y poblaciones celulares inmunitarias que intervienen en la respuesta. El antígeno suministrado por vía intravenosa se traslada primero al bazo, mientras que el que ingresa por vía subcutánea pasa primero a los ganglios linfáticos locales. Las diferencias de las células linfoides que pueblan estos órganos pueden reflejarse en la reacción inmunitaria ulterior.

Coadyuvantes

Los **coadyuvantes** (del latín *adjuvare*, ayudar) son sustancias que, cuando se mezclan e inyectan con un antígeno, aumentan la inmunogenicidad de dicho antígeno. Los coadyuvantes se emplean con frecuencia para reforzar la reacción inmunitaria cuando un antígeno tiene inmunogenicidad baja o sólo se dispone de cantidades pequeñas de él. Por ejemplo, la respuesta de anticuerpo de los ratones a la inmunización con BSA puede incrementarse cinco veces o más si la BSA se administra con un coadyuvante. Se desconoce el modo preciso en que los coadyuvantes acentúan la reacción inmunitaria, pero en la actualidad se sabe que algunos de los coadyuvantes conocidos (p. ej., polirribonucleótidos sintéticos y lipopolisacáridos bacterianos) son ligandos de los receptores tipo Toll presentes en la superficie de células dendríticas y macrófagos (cap. 3) y por tanto estimulan las inmunorreacciones a través de la activación del sistema inmunitario innato.

En general, parece ser que los coadyuvantes ejercen uno o más de los siguientes efectos:

- Prolongación de la persistencia del antígeno
- Intensificación de señales coestimuladoras
- Aumento de la inflamación local
- Estimulación de la proliferación inespecífica de linfocitos

El sulfato potásico de aluminio (alumbre) es un coadyuvante que prolonga la persistencia de antígenos, y es el único aprobado para uso general en seres humanos. Cuando se mezcla un antígeno con alumbre, la sal precipita el antígeno. La inyección de este precipitado de alumbre tiene como resultado una liberación más lenta del antígeno del sitio de inyección, de tal manera que aumenta el tiempo eficaz de exposición al antígeno de unos cuantos días sin el coadyuvante, a varias semanas con él. El precipitado de alumbre también incrementa el tamaño del antígeno y, por consiguiente, la posibilidad de fagocitosis.

Los coadyuvantes de agua en aceite también prolongan la persistencia del antígeno. Un preparado que se conoce como **coadyuvante incompleto de Freund** contiene antígeno en solución acuosa, aceite mineral y un agente emulsificador, como monooleato de manida, que dispersa el aceite en gotitas pequeñas que rodean al antígeno; a continuación, este último se libera con gran lentitud del sitio de inyección. Este preparado se basa en el **coadyuvante completo de Freund**, el primer coadyuvante formulado eficaz, que Jules Freund desarrolló hace muchos años y que contiene micobacterias muertas por calor como ingrediente adicional. El muramildipéptido, un componente de la pared de la célula micobacteriana, activa células dendríticas y macrófagos y torna más potente al coadyuvante completo de Freund en comparación con la forma incompleta. Macrófagos y células dendríticas activados son más fagocíticos que los no activados y expresan concentraciones más altas de las moléculas que inducen la coestimulación y la intensificación de la inmunorrespuesta de células T. Así, la presentación de antígeno y la señal coestimuladora necesaria suelen aumentar en presencia de un coadyuvante.

El alumbre y los coadyuvantes de Freund estimulan asimismo una reacción inflamatoria crónica local que atrae fagocitos y linfocitos. Por lo regular, esta infiltración de células en el sitio de la inyección del coadyuvante tiene como resultado la formación de una masa de células, densa y rica en macrófagos, llamada **granuloma**.

Epítopos

Como ya se mencionó, las células inmunitarias no interactúan con la totalidad de una molécula inmunógena o no la reconocen; más bien, los linfocitos identifican sitios discretos en la macromolécula llamados epítopos, o determinantes antigénicos. Estudios con antígenos pequeños han revelado que las células B y T reconocen diferentes epítopos en la misma molécula antigénica. Por ejemplo, cuando se inmunizaron ratones con glucagon, una hormona humana pequeña de 29 aminoácidos, se estimuló la formación de anticuerpos contra epítopos en la porción amino terminal, en tanto que las células T sólo reaccionaron a epítopos en la porción carboxilo terminal.

Los linfocitos pueden interactuar como un antígeno complejo a varios niveles de la estructura del antígeno. Un epítopo en un antígeno proteínico puede incluir elementos de las estructuras primaria, secundaria, terciaria e incluso la cuaternaria de la proteína (fig. 4-2). En los polisacáridos se observan con frecuencia cadenas ramificadas, y las puntas de las ramas pueden contribuir a la conformación de epítopos. Los linfocitos B reconocen antígeno soluble cuando se une a moléculas de anticuerpo en su membrana. Dado que las células B captan antígeno que está libre en solución, los epítopos que ellas reconocen tienden a ser sitios muy accesibles en la superficie expuesta del inmunógeno. En el caso de los linfocitos T, los epítopos procedentes de proteínas difieren en que son péptidos que suelen provenir de la digestión enzimática de proteínas de patógenos y son reconocidos por el receptor de célula T sólo cuando forman complejos con antígeno y MHC. Así, no es necesaria la accesibilidad en solución, como en el caso de un epítopo de célula B. En el cuadro 4-2 se resumen las principales diferencias en la antigenicidad para células B y T.

Los epítopos de células B tienen propiedades características

Por lo regular, los epítopos de célula B en proteínas naturales (nativas) se componen de aminoácidos hidrófilos en la superficie de la proteína que son topográficamente accesibles a anticuerpo unido a membrana o libre. Un epítopo de célula B debe estar al alcance a fin de que sea capaz de unirse a un anticuerpo; en general, es más probable que se reconozcan como epítopos regiones salientes en la superficie de la proteína, y estas regiones suelen constar de aminoácidos predominantemente hidrófilos. Las secuencias de aminoácidos ocultas en el interior de una proteína a menudo consisten en aminoácidos de predominio hidrófobo y no pueden funcionar como epítopos de célula B, a menos que se desnaturalice primero la proteína.

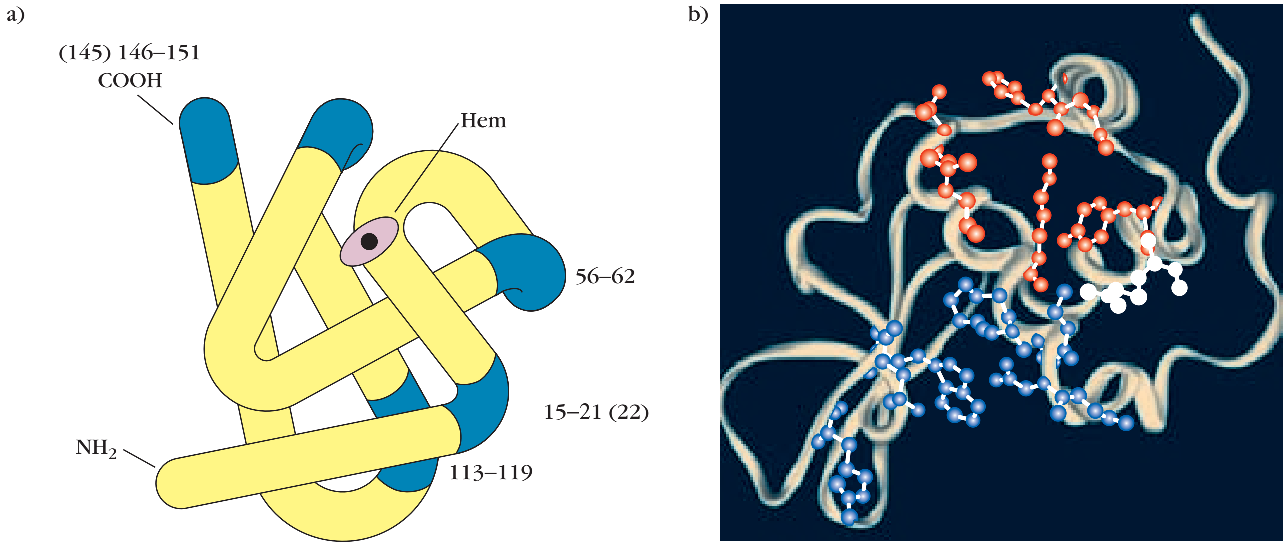
CUADRO 4-2 Comparación del reconocimiento de antígeno por células T y B

Característica	Células B	Células T
Interacción con antígeno	Incluye complejo binario de membrana Ig y Ag	Implica complejo ternario de receptor de célula T, Ag y molécula MHC
Unión de antígeno soluble	Sí	No
Participación de moléculas MHC	No se requiere	Se requiere para exhibir antígeno procesado
Naturaleza química de los antígenos	Proteína, polisacárido, lípido	Sobre todo proteínas, pero también algunos lípidos y glucolípidos presentados en moléculas parecidas a MHC
Propiedades del epítopo	Accesible, hidrófilo, péptidos móviles que contienen aminoácidos secuenciales o no secuenciales	Péptidos lineales internos producidos por el procesamiento de antígeno y unidos a moléculas MHC

Los epítopos de célula B pueden estar constituidos por residuos secuenciales contiguos a lo largo de la cadena peptídica o residuos no secuenciales de segmentos de la cadena que se acercan entre sí a causa de la conformación plegada de un antígeno. La mayoría de los anticuerpos inducidos por proteínas globulares se une a la proteína sólo cuando se encuentra en su conformación natural. Debido a que la desnaturalización de estos antígenos suele modificar la estructura de sus epítopos, los anticuerpos contra la proteína natural no se unen a la proteína desnaturalizada.

En una serie de experimentos con mioglobina de cachalote se identificaron cinco **epítopos secuenciales** distintos, cada uno de los cuales contenía seis a ocho aminoácidos contiguos. Cada uno de estos epítopos se halla en la superficie de la molécula en pliegues entre las regiones de las hélices α (fig. 4-3a). La mioglobina de cachalote también posee varios **epítopos no secuenciales**, o **determinantes antigénicos conformacionales**. Los residuos que constituyen estos epítopos están muy separados en la secuencia primaria de aminoácidos, pero muy cercanos entre sí en la estructura terciaria de la molécula. Tales epítopos sólo

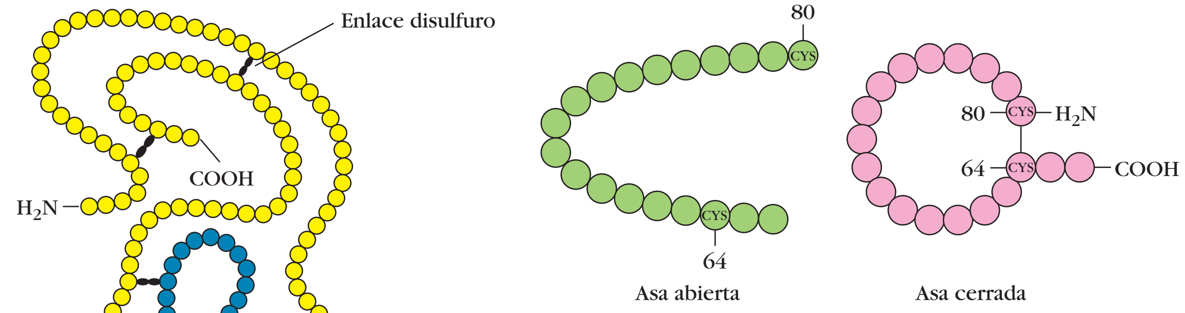
FIGURA 4-3 PARA VISUALIZACIÓN DE CONCEPTOS



Los antígenos proteínicos suelen contener epítopos de célula B secuenciales y no secuenciales. a) Diagrama de la mioglobina de cachalote que muestra las localizaciones de los cinco epítopos de célula B secuenciales (azul). b) Diagrama de listón de la lisozima de la clara de huevo de gallina que ilustra los residuos que componen un epítopo no secuencial (conformacional). Los residuos que entran en contacto con cadenas ligeras o pesadas (o ambas) de anticuerpos se muestran en rojo, azul, y blanco, respectivamente. Estos residuos están espaciados con amplitud en la secuencia de aminoácidos, pero se aproximan entre sí por el plegamiento de la proteína. *[Parte a adaptada de M. Z. Atassi y A. L. Kazim, 1978,* Advances in Experimental Medicine and Biology ***98**:9; parte b tomada de W. G. Laver et al., 1999,* Cell ***61**:554.]*

a) Lisozima de clara de huevo de gallina

b) Péptidos de asa sintéticos



c) Inhibición de la reacción entre el asa de HEL y el antisuero antiasa

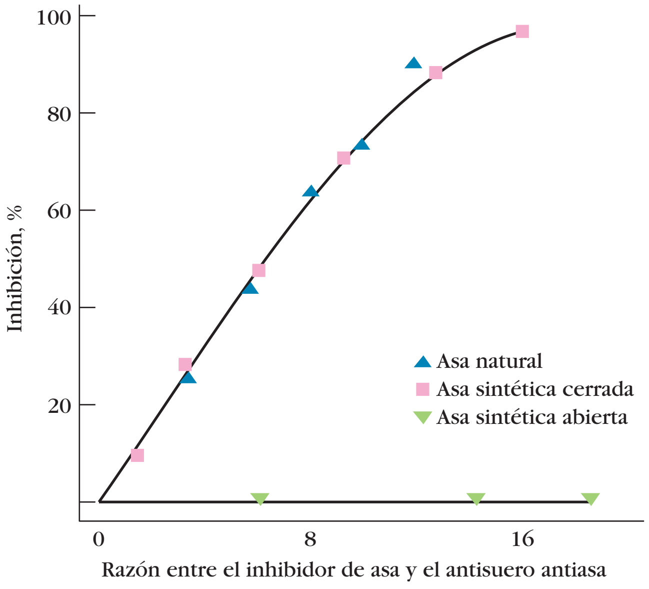


FIGURA 4-4 Demostración experimental del hecho de que la unión de anticuerpo a determinantes conformacionales en la lisozima de la clara de huevo de gallina (HEL) depende de la conservación de la estructura terciaria de los epítopos por enlaces disulfuro intracadena. a) Diagrama de la estructura primaria de la HEL, donde los círculos representan aminoácidos. El asa (círculos azules) formada por los enlaces disulfuro entre los residuos cisteína en las posiciones 64 y 80 constituye uno de los determinantes conformacionales de la lisozima de la clara de huevo de gallina. b) Péptidos sintéticos de las asas abierta y cerrada que corresponden al epítopo en asa de la lisozima de la clara de huevo de gallina. c) Inhibición de la unión entre el epítopo en asa de HEL y el antisuero antiasa. Este último se incubó primero con la secuencia del asa natural, el péptido sintético de asa cerrada o el péptido sintético de asa abierta; a continuación, se midió la capacidad del antisuero de unir la secuencia del asa natural. La ausencia de cualquier inhibición por el péptido de asa abierta indica que no se une al antisuero antiasa. *[Adaptada de D. Benjamin et al., 1984,* Annual Review of Immunology ***2****:67.]*

están presentes cuando la proteína se encuentra en su conformación nativa. En la figura 4-3b se muestra un epítopo no secuencial bien caracterizado en la lisozima de la clara de huevo de gallina (**HEL**, del inglés *hen egg-white lysozyme*). Aunque los residuos que componen este epítopo de HEL están separados en la secuencia primaria de aminoácidos, se acercan entre sí debido al plegamiento terciario de la proteína.

Por lo general, los epítopos secuenciales y no secuenciales actúan de manera distinta cuando se desnaturaliza, fragmenta o reduce una proteína. Por ejemplo, la fragmentación apropiada de la mioglobina de cachalote puede dar lugar a cinco fragmentos, que conservan cada uno un epítopo secuencial, como se demostró al observar que el anticuerpo puede unirse a cada fragmento. Por otra parte, la fragmentación de una proteína o la reducción de sus enlaces disulfuro suele destruir los epítopos no secuenciales. Por ejemplo, la HEL tiene cuatro enlaces disulfuro intracadena, lo que establece la configuración final de la proteína (fig. 4-4a). Muchos anticuerpos contra HEL reconocen varios epítopos y un anticuerpo preciso identifica cada uno de los ocho diferentes epítopos; cada uno de los ocho epítopos distintos se ha identificado por medio de un anticuerpo distinto. La mayoría de estos epítopos son determinantes conformacionales que dependen de la estructura total de la proteína. Si los enlaces disulfuro intracadena de la HEL se reducen con mercaptoetanol, se pierden los epítopos no secuenciales; por ello, el anticuerpo contra HEL natural no se une a la HEL reducida.

El experimento de inhibición que se muestra en las figuras 4-4b y c ilustra muy bien este punto. Un anticuerpo contra un determinante conformacional, en este caso un asa peptídica que se encuentra en la HEL natural, pudo unirse al epítopo sólo si estaba intacto el enlace disulfuro que conserva la estructura del asa. La información sobre los requerimientos estructurales del sitio de combinación de anticuerpo se obtuvo al examinar la capacidad de moléculas estructuralmente parecidas al antígeno natural de unirse a ese anticuerpo. Si la molécula estructuralmente similar tiene los epítopos esenciales que se encuentran en el antígeno natural, se unirá al sitio de combinación del anticuerpo y en consecuencia impedirá su ocupación por el antígeno natural. En esta prueba de inhibición, la capacidad del asa cerrada (fig. 4-4b, derecha) de inhibir la unión mostró que dicha asa es lo suficientemente similar a la HEL para que el anticuerpo anti-HEL natural la reconociera. Incluso si el asa abierta (fig. 4-4b, izquierda) tuviera la misma secuencia de aminoácidos que el asa cerrada, carece de los epítopos que el anticuerpo reconoce y por tanto es incapaz de bloquear la unión de la HEL (fig. 4-4c).

Los epítopos de célula B tienden a localizarse en regiones flexibles de un inmunógeno y a menudo muestran movilidad de sitio. John A. Tainer y colaboradores analizaron los epítopos de varios antígenos proteínicos (miohemeriterina, insulina, citocromo *c*, mioglobina y hemoglobina) comparando las posiciones de los epítopos de célula B conocidos con la movilidad de los mismos residuos. Su análisis reveló que los principales determinantes antigénicos en estas proteínas por lo general se localizaban en las regiones más móviles. Estos investigadores propusieron que la movilidad de sitio de los epítopos maximiza la complementariedad con el sitio de unión de anticuerpo; al parecer los epítopos más rígidos se unen con menor eficacia. Sin embargo, en virtud de la pérdida de entropía originada por la unión a un sitio flexible, la unión de anticuerpo a un epítopo flexible suele ser de afinidad más baja que la unión de anticuerpo a un epítopo rígido.

Las proteínas complejas contienen múltiples epítopos de célula B superpuestos, algunos de los cuales son inmunodominantes. Durante muchos años, un dogma de la inmunología señalaba que cada proteína globular tenía un número pequeño de epítopos, limitado cada uno a una región muy accesible y determinado por la conformación total de la proteína. Sin embargo, en fecha más reciente se demostró que la mayor parte de la superficie de una proteína globular tiene potencial antigénico. Esto se demostró al comparar los perfiles de unión de antígeno de diferentes anticuerpos monoclonales a diversas proteínas globulares. Por ejemplo, cuando se compararon 64 diferentes anticuerpos monoclonales contra BSA por su capacidad de unirse a un grupo de 10 albúminas de mamíferos diferentes, surgieron 25 perfiles distintos de unión de antígeno superpuestos, lo que llevó a pensar que estos 64 diferentes anticuerpos reconocieron un mínimo de 25 distintos epítopos en la albúmina sérica bovina (BSA).

Por consiguiente, la superficie de una proteína posee un gran número de posibles sitios antigénicos. El subconjunto de sitios antigénicos en una proteína particular reconocida por el sistema inmunitario de un animal es mucho más pequeño que el posible repertorio antigénico y varía de una especie a otra, e incluso entre los miembros individuales de una especie dada. En un animal, ciertos epítopos de un antígeno son reconocidos como inmunógenos, pero otros no. Más aún, algunos epítopos, llamados **inmunodominantes**, inducen una reacción inmunitaria más intensa que otros epítopos en un animal particular. Es muy probable que las propiedades topográficas intrínsecas del epítopo así como los mecanismos reguladores del animal influyan en la inmunodominancia de los epítopos.

Estructura básica y función de los anticuerpos

El reconocimiento de un inmunógeno por los anticuerpos de superficie de la célula B inicia la proliferación y diferenciación en linfocitos B de memoria y células plasmáticas (cap. 11). Las células plasmáticas secretan moléculas de anticuerpo solubles con idéntica especificidad de antígeno a la del receptor de superficie de la célula B original. En las siguientes secciones se describen las características estructurales de las moléculas de anticuerpo que les permiten realizar sus dos funciones principales:

1. Fijar antígenos extraños encontrados por el hospedador
2. Mediar funciones efectoras para neutralizar o eliminar invasores externos

Desde finales del siglo XIX se sabe que los anticuerpos residen en el suero sanguíneo. (A mediados del siglo XX se demostró que también hay anticuerpos en otras secreciones corporales: leche, lágrimas, saliva, bilis, etc.) Al centrifugar la sangre pueden separarse una fracción líquida y otra celular. La primera es el **plasma** y la segunda contiene glóbulos rojos, leucocitos y plaquetas. El plasma comprende todas las moléculas pequeñas y macromoléculas solubles de la sangre, incluidas la fibrina y otras proteínas necesarias para la formación de coágulos sanguíneos. Si se deja coagular la sangre o el plasma, la fase líquida que permanece se denomina **suero**. La primera prueba de que los anticuerpos están contenidos en fracciones proteínicas séricas particulares se obtuvo de un clásico experimento que llevaron a cabo Arne Tiselius y Elvin A. Kabat en 1939. Estos científicos inmunizaron conejos con la proteína ovalbúmina (la albúmina de la clara de huevo) y a continuación dividieron el suero de los conejos inmunizados en dos alícuotas. La electroforesis de una alícuota identificó cuatro picos, correspondientes a la albúmina y las globulinas α, β y γ. Antes de la electroforesis, la otra alícuota sérica se mezcló con el antígeno inmunizante (ovalbúmina), para permitir la formación de un inmunoprecipitado (complejo de antígeno y anticuerpo) el cual se extrajo para dejar sólo las

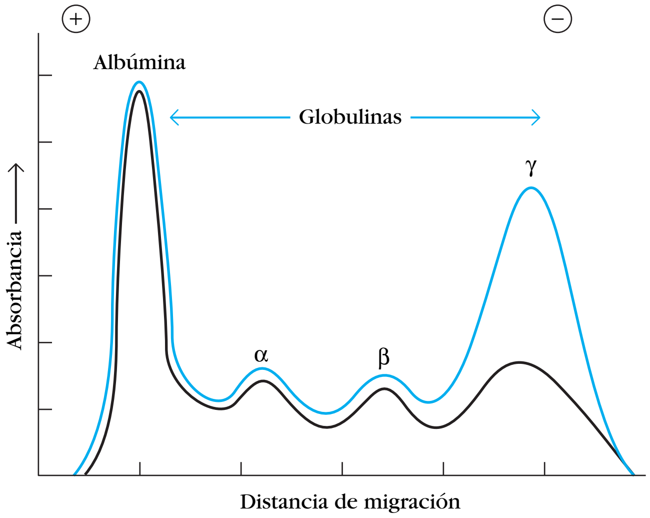


FIGURA 4-5 Demostración experimental que indica que la mayor parte de los anticuerpos se encuentra en la fracción gammaglobulina de las proteínas séricas. Después de inmunizar conejos con ovalbúmina (OVA), se reunió su antisuero y se sometió a electroforesis, que separó las proteínas séricas según su carga eléctrica y masa. La línea azul muestra el patrón electroforético del antisuero no tratado. La línea negra señala el patrón de antisuero que se incubó con OVA para eliminar el antisuero anti-OVA y a continuación se sometió a electroforesis. *[Adaptada de A. Tiselius y E. A. Kabat, 1939,* Journal of Experimental Medicine ***69:****119, con autorización del titular del copyright, Rockefeller University Press.]*

proteínas séricas restantes, que no reaccionaron con el antígeno. Una comparación de los perfiles electroforéticos de estas dos alícuotas séricas reveló un decremento considerable del pico de la globulina γ (gammaglobulina) en la alícuota que reaccionó con antígeno (fig. 4-5). De esta manera, se identificó que la **fracción globulínica** γ contenía los anticuerpos séricos, a los que se denominó **inmunoglobulinas**, con objeto de diferenciarlos de cualquier otra proteína que pudiera incluirse en la fracción de la globulina γ. Los primeros experimentos de Kabat y Tiselius reunieron las proteínas séricas en tres picos mayores que no eran de albúmina: α, β y γ. Hoy en día se sabe que si bien la inmunoglobulina G (IgG), la principal clase de moléculas de anticuerpo, en efecto se encuentra en su mayor parte en la fracción globulina γ, existen cantidades significativas de ella y otras clases importantes de moléculas de anticuerpo en las fracciones α y β del suero.

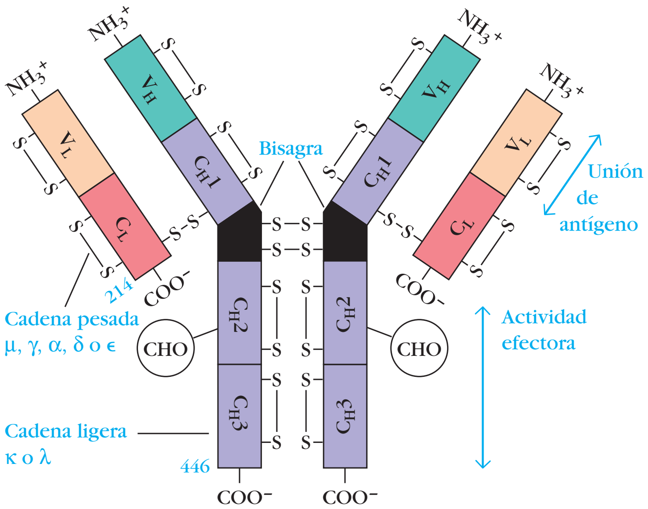


FIGURA 4-6 Diagrama esquemático de la estructura de las inmunoglobulinas deducida por análisis de las secuencias de aminoácidos. Cada cadena pesada y ligera en una molécula de inmunoglobulina contiene una región variable (V) amino terminal (color agua y pardo, respectivamente), que incluye 100 a 110 aminoácidos, y difiere de un anticuerpo al siguiente. El resto de cada cadena en la molécula —las regiones constantes (C) (colores púrpura y rojo)— muestra una variación limitada que define los dos subtipos de cadena ligera y las cinco subclases de cadena pesada. Algunas cadenas pesadas (γ, δ y α) contienen asimismo una región de bisagra rica en prolina (negro). Las porciones amino terminales, que corresponden a las regiones V, se unen a antígeno; los otros dominios median las funciones efectoras. Las cadenas pesadas μ y ϵ, que carecen de una región de bisagra, contienen un dominio adicional en la parte media de la molécula. CHO indica un grupo carbohidrato unido a la cadena pesada.

Los anticuerpos son heterodímeros

Las moléculas de anticuerpo tienen una estructura común de cuatro cadenas peptídicas (fig. 4-6). Esta estructura se integra con dos **cadenas ligeras (L)** (del inglés *light*) idénticas, consistentes en polipéptidos de unos 22 000 Da, y dos **cadenas pesadas (H)** (del inglés *heavy*), polipéptidos más grandes de unos 55 000 Da o más. Cada cadena ligera está unida a una cadena pesada por un enlace disulfuro y por interacciones no covalentes, como puentes salinos, enlaces de hidrógeno e interacciones hidrófobas, para formar un heterodímero (H-L). Las dos combinaciones idénticas de cadena pesada y ligera (H-L) están unidas entre sí por interacciones no covalentes similares y por puentes disulfuro para formar la estructura de anticuerpo básica de cuatro cadenas $(H\text{-}L)_2$, un dímero de dímeros. Como se verá más adelante, el número exacto y las posiciones precisas de estos enlaces disulfuro intercadenas difieren entre las clases y subclases de anticuerpo.

Aproximadamente los 110 primeros aminoácidos de la región amino terminal de una cadena ligera o pesada varían mucho entre anticuerpos de distinta especificidad. Estos segmentos de secuencia muy variable se conocen como *regiones V:* V_L en las cadenas ligeras y V_H en las pesadas. Todas las diferencias de especificidad que poseen los distintos anticuerpos pueden seguirse hasta variaciones en las secuencias de aminoácidos de las regiones V. De hecho, la mayor parte de las diferencias entre los anticuerpos se encuentra dentro de áreas de las regiones V llamadas *regiones determinantes de complementariedad (CDR)*; estas CDR, tanto en la cadena ligera como en la pesada, son las que constituyen los sitios de unión de antígeno en la molécula de anticuerpo. En contraste, dentro de cada clase específica de anticuerpo se observan mucho menos diferencias cuando se comparan secuencias a lo largo del resto de la molécula. Las regiones de secuencia relativamente constante más allá de las regiones variables se han designado regiones C: C_L en la cadena ligera y C_H en la pesada. Los anticuerpos son glucoproteínas; con pocas excepciones, los sitios de fijación de carbohidratos están restringidos a la región constante. No se comprende por completo el papel de la glucosilación de anticuerpos, pero es probable que incremente la solubilidad de las moléculas. La glucosilación inapropiada, o la falta de ella, afecta la rapidez con que se eliminan anticuerpos del suero y disminuye la eficiencia de la interacción entre el anticuerpo y otras proteínas.

Métodos químicos y enzimáticos revelaron la estructura básica del anticuerpo

El conocimiento de la estructura básica del anticuerpo derivó de una diversidad de observaciones experimentales. Cuando la fracción globulínica γ del suero se separa en fracciones de peso molecular alto y bajo, los anticuerpos de alrededor de 150 000 Da, que se designan en conjunto como inmunoglobulina G (IgG), se encuentran en la fracción de peso molecular bajo. En un experimento fundamental, la digestión breve de IgG con la enzima papaína produjo tres fragmentos, dos de los cuales eran idénticos y un tercero muy diferente (fig. 4-7). Los dos fragmentos idénticos (cada uno de 45 000 Da) tenían actividad de unión de antígeno y se denominaron **fragmentos Fab** (del inglés *fragment antigen binding*, fragmento de unión de antígeno). El otro fragmento (50 000 Da) carecía por completo de actividad de unión de antígeno. Debido a que se observó que se cristalizaba durante el almacenamiento en frío, se llamó **fragmento Fc**

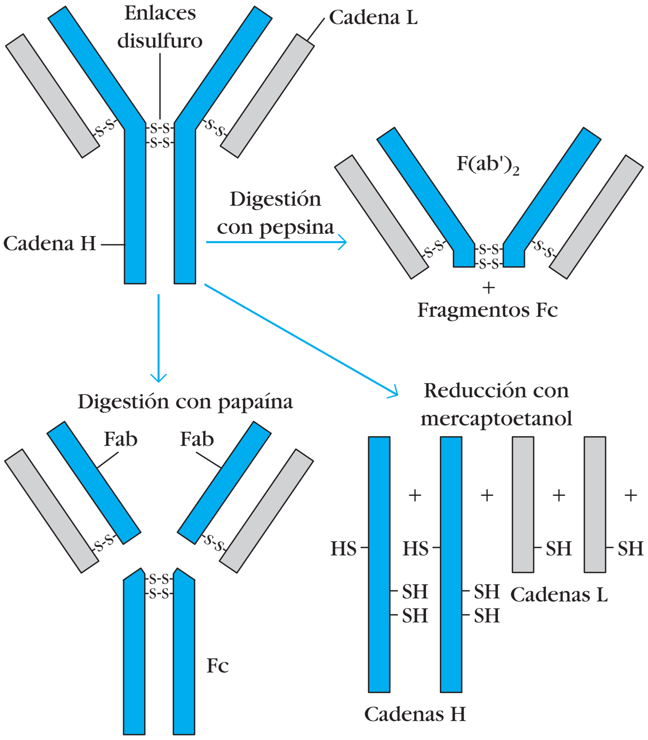


FIGURA 4-7 Estructura prototípica de la IgG que muestra la configuración de la cadena y los enlaces disulfuro intercadena. Se indican los fragmentos que se producen mediante digestión enzimática con pepsina o papaína o por escisión de los enlaces disulfuro con mercaptoetanol. Las cadenas ligeras (L) se indican en gris y las pesadas (H) en azul.

(del inglés *fragment crystallizable*, fragmento cristalizable). La digestión con pepsina, una enzima proteolítica diferente, también demostró que las propiedades de unión de antígeno de un anticuerpo pueden separarse del resto de la molécula. La digestión con pepsina generó un fragmento único de 100 000 Da, compuesto por dos subunidades parecidas al Fab, al que se denominó **fragmento F(ab')$_2$**, que une antígeno. El fragmento Fc no se recuperó de la digestión con pepsina porque se escindió en múltiples péptidos pequeños.

Un fenómeno fundamental para inferir la estructura multicatenaria de la IgG se observó al someter la molécula a reducción con mercaptoetanol y alquilación, un tratamiento químico que rompe de manera irreversible enlaces disulfuro pero no enlaces peptídicos. Si después del tratamiento la muestra se somete a cromatografía en una columna que separa moléculas por tamaño, es evidente que la molécula de IgG intacta de 150 000 Da está compuesta, de hecho, por subunidades. Cada molécula de IgG contiene dos cadenas polipeptídicas más grandes de unos 50 000 Da, que se designan cadenas pesadas (H), y dos cadenas más pequeñas, de unos 22 000 Da, que se denominan cadenas ligeras (L) (fig. 4-7).

Los anticuerpos en sí se utilizaron para determinar cómo se relacionaban los productos de la digestión enzimática —Fab, F(ab′)$_2$ y Fc— con los de la reducción de las cadenas pesada y ligera. Esta duda se resolvió al emplear antisuero de cabras inmunizadas con cualesquiera de los fragmentos Fab o Fc de IgG de conejo. El anticuerpo contra el fragmento Fab reaccionó con las cadenas H y L, en tanto que el anticuerpo anti-Fc sólo lo hizo con la cadena H. Estas observaciones llevaron a concluir que el fragmento Fab consiste en una porción de una cadena pesada más una cadena ligera intacta, y que el Fc sólo contiene componentes de cadena pesada. Con base en estos resultados y los mencionados con anterioridad, se dedujo la estructura de la IgG que se muestra en la figura 4-6. Según este modelo, la molécula de IgG se integra con dos cadenas H y dos L idénticas enlazadas por puentes disulfuro.

Era de esperar que el paso siguiente en la obtención de una imagen de la estructura de los anticuerpos fuera determinar su secuencia de aminoácidos, pero entonces surgió otro problema. La población de anticuerpos en la fracción de gammaglobulina sérica consta de un espectro heterogéneo de anticuerpos: muchos anticuerpos distintos, cada uno presente en pequeñas cantidades. Incluso si la inmunización se realiza con un conjugado hapteno-portador, la población de anticuerpos creados contra el hapteno es heterogénea, porque múltiples anticuerpos reconocen diferentes epítopos del hapteno. Sin embargo, para el análisis de la secuencia de aminoácidos se requiere una muestra pura de la molécula en estudio. Este obstáculo para el análisis de la secuencia fue superado mediante el uso de inmunoglobulinas de pacientes con **mieloma múltiple**, un cáncer de células plasmáticas productoras de anticuerpos. Las células plasmáticas de una persona normal son células en etapa final que secretan una especie molecular de anticuerpo única por un período limitado y a continuación mueren. En contraste, una clona de células plasmáticas en una persona con mieloma múltiple escapa a los controles normales de su lapso de vida y proliferación y no constituye una célula en etapa final; por el contrario, las células se dividen una y otra vez sin regulación y no requieren ninguna activación por antígeno que las induzca a proliferar. Aunque esta célula plasmática cancerosa, llamada **célula de mieloma**, se ha transformado, no lo hacen su maquinaria de síntesis de proteínas ni sus funciones secretorias; por consiguiente, la célula secreta aún anticuerpo homogéneo desde el punto de vista molecular. Este anticuerpo no se diferencia de las moléculas normales de anticuerpo, aunque se denomina **proteína de mieloma** para indicar su origen. En un sujeto afectado con mieloma múltiple, la proteína de mieloma puede constituir 95% de las inmunoglobulinas séricas. En muchos enfermos, las células de mieloma secretan asimismo cantidades excesivas de cadenas ligeras. La profusión de estas últimas se descubrió por primera vez en la orina de pacientes con mieloma y se les llamó **proteínas de Bence-Jones**, en honor de quienes las descubrieron.

El mieloma múltiple afecta también a otros animales. En ratones puede surgir de manera espontánea, al igual que en el ser humano; también es posible crear condiciones que favorecen la inducción de un mieloma al inyectar aceite mineral en la cavidad peritoneal. Las clonas de células plasmáticas malignas que se desarrollan se conocen como **plasmacitomas** y muchas de ellas se designan MOPC, término que alude a la inducción de células de plasmacitoma con aceite mineral (*mineral-oil induction of plasmacytoma cells*). En la actualidad, la American Type-Culture Collection conserva un gran número de líneas de MOPC de ratón que secretan diferentes clases de inmunoglobulinas, como un almacén de líneas celulares sin costo que se utilizan con regularidad en la investigación. En el método para producir anticuerpos monoclonales de una especificidad deseada, cuyos pioneros fueron Georges Köhler y Cesar Milstein (véase más adelante), se hace uso de las líneas de plasmacitoma. Esta tecnología de hibridoma permite la producción de anticuerpos homogéneos para estudios estructurales y funcionales y para una variedad de aplicaciones clínicas.

La determinación de las secuencias de la cadena ligera reveló regiones constantes y variables

Cuando se compararon las secuencias de aminoácidos de varias proteínas de Bence-Jones (cadenas ligeras) de diferentes individuos surgió un patrón notable. Se encontró que la mitad amino terminal de la cadena, que incluía 100 a 110 aminoácidos, variaba entre diferentes proteínas de Bence-Jones. Esta área se denominó **región variable (V)**. La mitad carboxilo terminal de la molécula, llamada **región constante (C)**, tenía dos secuencias de aminoácidos básicas. Esto llevó a reconocer que había dos tipos de cadena ligera, **κ** y **λ**. En el ser humano, 60% de las cadenas ligeras son κ y 40% son λ, en tanto que en el ratón, 95% de las cadenas ligeras son κ y sólo 5% son λ. Una molécula de anticuerpo normal sólo contiene un tipo de cadena ligera, sea κ o λ, nunca ambas.

Las secuencias de aminoácidos de las regiones constantes de las cadenas ligeras λ muestran diferencias menores que se utilizan para clasificarlas en subtipos. En ratones y en el ser humano existen cuatro subtipos (λ_1, λ_2, λ_3 y λ_4). Sustituciones de aminoácidos sólo en unas cuantas posiciones son la causa de las diferencias de subtipo.

Existen cinco clases principales de cadenas pesadas

En los estudios de secuenciación de la cadena pesada se redujeron las proteínas de mieloma con mercaptoetanol y se alquilaron y separaron las cadenas pesadas mediante filtración en gel en un solvente desnaturalizador. Cuando se compararon las secuencias de aminoácidos de varias cadenas pesadas de proteínas de mieloma surgió un patrón similar al de las cadenas ligeras. La porción amino terminal de la cadena, que poseía 100 a 110 aminoácidos, mostró una gran variación de secuencia entre las cadenas pesadas del mieloma y, por consiguiente, se denominó región variable (V). La parte restante de la proteína evidenció cinco patrones de secuencia básicos, que correspondieron a cinco diferentes regiones constantes (C) de cadena pesada (μ, δ, γ, ϵ y α). Cada una de estas cinco distintas cadenas pesadas se conoce como **isotipo**. La longitud de las regiones constantes es de unos 330 aminoácidos para δ, γ y α y de 440 aminoácidos para μ y ϵ. Las cadenas pesadas de una molécula de anticuerpo particular determinan la clase de ese anticuerpo: IgM (μ), IgG (γ), IgA (α), IgD (δ) o IgE (ϵ). Las cadenas H de cada clase pueden parearse con cadenas ligeras κ o λ. Una molécula individual de anticuerpo posee dos cadenas pesadas idénticas y dos ligeras idénticas entre sí, H_2L_2, o un múltiplo $(H_2L_2)_n$ de esta estructura básica de cuatro cadenas (cuadro 4-3).

CUADRO 4-3 Cadenas de las cinco clases de inmunoglobulina humana

Clase*	Cadena pesada	Subclases	Cadena ligera	Fórmula molecular
IgG	γ	γ1, γ2, γ3, γ4	κ o λ	$\gamma_2\kappa_2$ $\gamma_2\lambda_2$
IgM	μ	Ninguna	κ o λ	$(\mu_2\kappa_2)_n$ $(\mu_2\lambda_2)_n$ n = 1 o 5
IgA	α	α1, α2	κ o λ	$(\alpha_2\kappa_2)_n$ $(\alpha_2\lambda_2)_n$ n = 1, 2, 3 o 4
IgE	ϵ	Ninguna	κ o λ	$\epsilon_2\kappa_2$ $\epsilon_2\lambda_2$
IgD	δ	Ninguna	κ o λ	$\delta_2\kappa_2$ $\delta_2\lambda_2$

*Véanse en la figura 4-1 las estructuras generales de las cinco clases de anticuerpos.

Diferencias menores en las secuencias de aminoácidos de las cadenas pesadas α y γ condujeron a una clasificación adicional de las cadenas pesadas en subisotipos que establecieron la subclase de moléculas de anticuerpo que constituyen. En el ser humano hay dos subisotipos de cadenas pesadas α —α_1 y α_2 (y por consiguiente dos subclases, IgA1 e IgA2)— y cuatro subisotipos de cadenas pesadas γ: γ_1, γ_2, γ_3 y γ_4 (y en consecuencia cuatro subclases, IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4). En ratones existen cuatro subisotipos, γ_1, γ_{2a}, γ_{2b} y γ_3 y las subclases correspondientes.

Las inmunoglobulinas poseen múltiples dominios con base en el plegamiento de la inmunoglobulina

La estructura global de la molécula de inmunoglobulina la determinan las organizaciones primaria, secundaria, terciaria y cuaternaria de la proteína. La estructura primaria, la secuencia de aminoácidos, da lugar a las regiones variable y constante de las cadenas pesada y ligera. La estructura secundaria consta del pliegue de la cadena polipeptídica extendida sobre sí misma en una serie de láminas plegadas β antiparalelas (fig. 4-8). Después, las cadenas se pliegan en una estructura terciaria de dominios globulares compactos, que están unidos a dominios contiguos por continuaciones de la cadena polipeptídica entre regiones de lámina plegada β. Por último, los dominios globulares de cadenas polipeptídicas pesadas y ligeras adyacentes interactúan en la estructura cuaternaria (fig. 4-9) y forman dominios funcionales que permiten que la molécula fije de manera específica antígeno y, al mismo tiempo, lleve a cabo varias funciones biológicas efectoras.

El análisis cuidadoso de las secuencias de aminoácidos de las cadenas pesada y ligera de la inmunoglobulina demostró que ambas cadenas contienen varias unidades homólogas de unos 110 residuos aminoácidos. Dentro de cada unidad, denominada dominio, un enlace disulfuro intracadena forma un asa de unos 60 aminoácidos. Las cadenas ligeras contienen un dominio va-

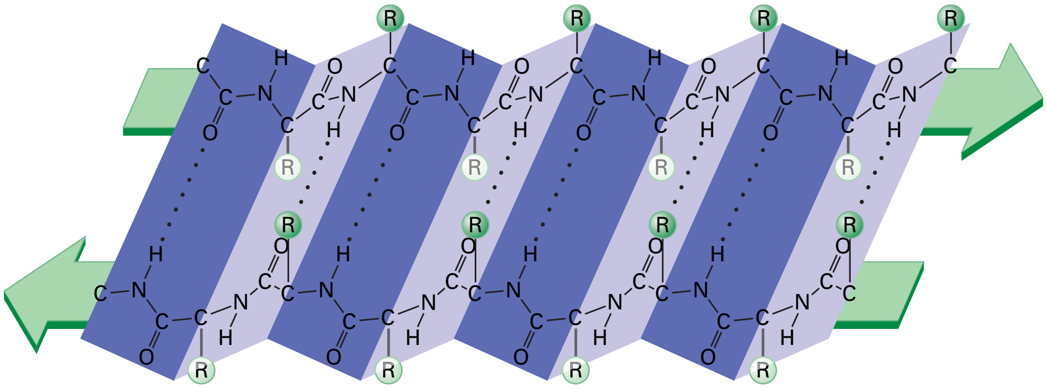
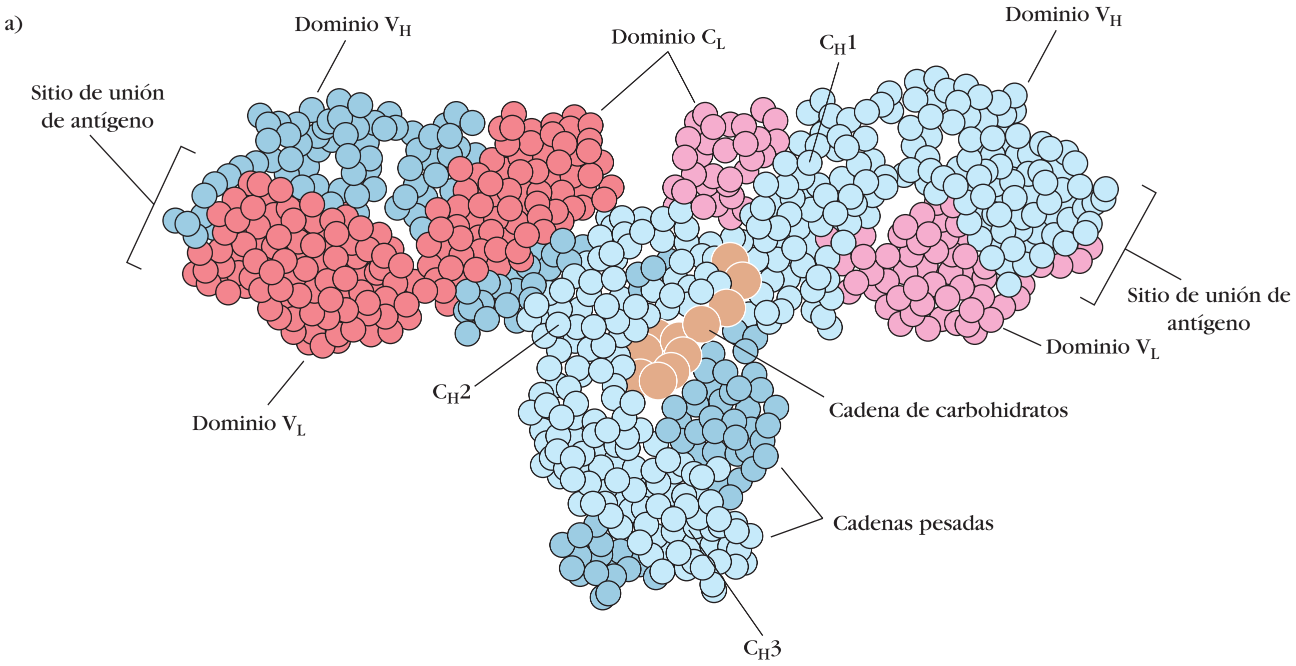


FIGURA 4-8 Fórmula estructural de una hoja plegada β que contiene dos hileras β antiparalelas. La estructura está unida entre sí por puentes de hidrógeno entre enlaces peptídicos de extensiones contiguas de cadenas polipeptídicas. Los grupos laterales de aminoácidos (R) están dispuestos de modo perpendicular al plano del papel. *[Adaptada de H. Lodish et al., 1995,* Molecular Cell Biology, *4th ed., Scientific American Books, New York; reimpreso con autorización de W. H. Freeman and Company.]*


a)
Dominio V_H
Dominio C_L
C_H1
Dominio V_H
Sitio de unión de antígeno
Sitio de unión de antígeno
Dominio V_L
Dominio V_L
C_H2
Cadena de carbohidratos
Cadenas pesadas
C_H3

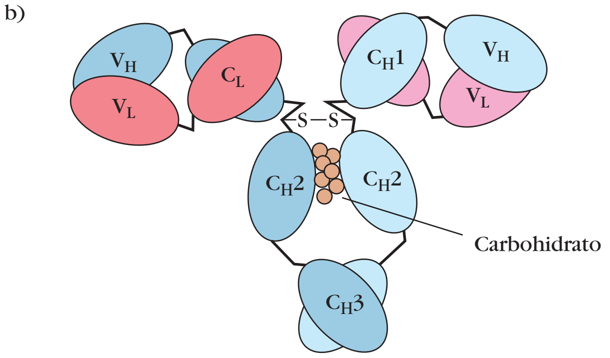

b)
V_H
V_L
C_L
C_H1
V_H
V_L
S—S
C_H2
C_H2
Carbohidrato
C_H3

FIGURA 4-9 Dos representaciones de una molécula de anticuerpo intacta. Las interacciones entre dominios en las cadenas separadas de la molécula de inmunoglobulina son decisivas para su estructura cuaternaria. a) Modelo de molécula de IgG, basado en análisis cristalográfico con rayos X, que muestra relaciones entre dominios de las cadenas separadas de una molécula de inmunoglobulina. Dichas relaciones son críticas para la estructura cuaternaria de la molécula. Cada esfera sólida representa un residuo (aminoácido); las esferas de color pardo más grandes son carbohidratos. Obsérvese que los dominios C_H2 sobresalen por la presencia de carbohidrato en el interior. La saliente torna a este dominio más accesible para otras moléculas, por ejemplo ciertos componentes del complemento. Se muestran las dos cadenas ligeras en tonos rojos y las dos pesadas en tonos azules. b) Diagrama esquemático que muestra los dominios de interacción de las cadenas pesada y ligera. *[Parte a de E. W. Silverton et al., 1977,* Proceedings of the National Academy of Science U.S.A. ***74:****5140.]*

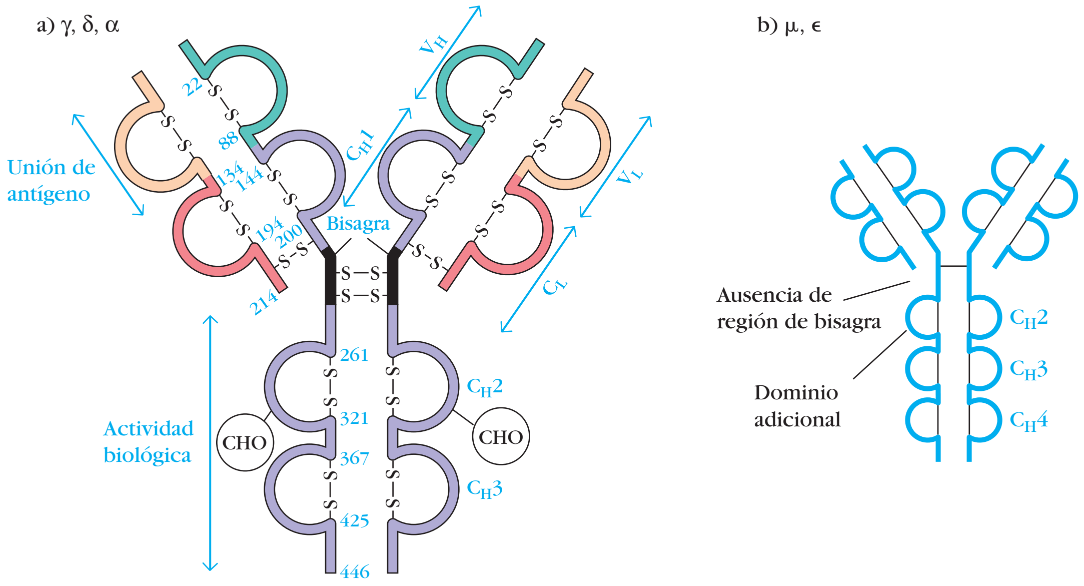


FIGURA 4-10 a) Las cadenas pesadas y ligeras están plegadas en dominios y cada una contiene alrededor de 110 aminoácidos y un enlace disulfuro intracadena que forma un asa de 60 aminoácidos. Los dominios amino terminal, que corresponden a las regiones V, se unen a antígeno; los otros dominios median las funciones efectoras. b) Las cadenas pesadas μ y ϵ contienen un dominio adicional que reemplaza la región de bisagra.

riable (V_L) y uno constante (C_L); las cadenas pesadas tienen un dominio variable (V_H) y tres o cuatro constantes (C_H1, C_H2, C_H3 y C_H4), según la clase de anticuerpo (fig. 4-10).

El análisis cristalográfico con rayos X reveló que los dominios de la inmunoglobulina están plegados en una estructura compacta característica llamada **pliegue de la inmunoglobulina**. Esta estructura consiste en un "sándwich" de dos láminas β plegadas, cada una con cadenas (hileras) β antiparalelas de aminoácidos, que están conectadas por asas de diversas longitudes (fig. 4-11). Las hileras β dentro de una lámina son estabilizadas por enlaces de hidrógeno que conectan los grupos amino (–NH) de una hilera con los grupos carbonilo de una hilera adyacente (fig. 4-8). Las hileras β se caracterizan por aminoácidos hidrófobos e hidrófilos alternados, cuyas cadenas laterales están dispuestas de forma perpendicular al plano de la lámina; los aminoácidos hidrófobos están orientados hacia el interior del sándwich y los aminoácidos hidrófilos hacia fuera. Las dos láminas β dentro de un pliegue de inmunoglobulina son estabilizados por las interacciones hidrófobas entre ellas y por un enlace disulfuro conservado.

Aunque los dominios variable y constante tienen estructura similar, existen diferencias sutiles entre ellos. El dominio V es apenas más largo que el C y contiene un par adicional de hileras β dentro de la estructura de la lámina β, así como la secuencia en asa adicional que conecta este par de hileras β (fig. 4-11).

La estructura básica del pliegue de inmunoglobulina contribuye a la estructura cuaternaria de las inmunoglobulinas al facilitar interacciones no covalentes entre dominios a través de las caras de las láminas β (fig. 4-8). Las interacciones forman enlaces entre dominios idénticos (p. ej., C_H2/C_H2, C_H3/C_H3 y C_H4/C_H4) y entre dominios no idénticos (como V_H/V_L y C_H1/C_L). La estructura del pliegue de inmunoglobulina hace posible asimismo longitudes y secuencias variables de aminoácidos que forman las asas que conectan las hileras β. Como se explica en la sección siguiente, algunas de las secuencias en asa de los dominios V_H y V_L contienen aminoácidos variables y constituyen el sitio de unión a antígeno de la molécula.

Sitio de unión de anticuerpos

Las moléculas de anticuerpo tienen dos funciones, unión a antígeno y mediación de funciones efectoras. La unión a antígeno es realizada por las porciones amino terminal, y las funciones efectoras por las regiones carboxilo terminales. Las características estructurales relacionadas con estas funciones se consideran en secciones posteriores.

Comparaciones detalladas de las secuencias de aminoácidos de un gran número de dominios V_L y V_H revelaron que la variación de la secuencia se concentra en unas cuantas regiones discretas de esos dominios. El patrón de esta variación se resume mejor mediante una gráfica cuantitativa de la variabilidad en cada posición de la cadena polipeptídica. La **variabilidad** se define como

$$\text{Variabilidad} = \frac{\text{Número de diferentes aminoácidos en una posición determinada}}{\text{Frecuencia del aminoácido más común en una posición determinada}}$$

Por consiguiente, si una comparación de las secuencias de 100 cadenas pesadas mostró que una serina se encontraba en la posición 7 en 51 de las secuencias (frecuencia de 0.51), ése sería el aminoácido más común. Si el examen de las otras 49 secuencias demuestra que la posición 7 estaba ocupada por glutamina, histidina, prolina o triptófano, la variabilidad en esa posición sería de 9.8 (5/0.51). Las gráficas de variabilidad de los dominios V_L y

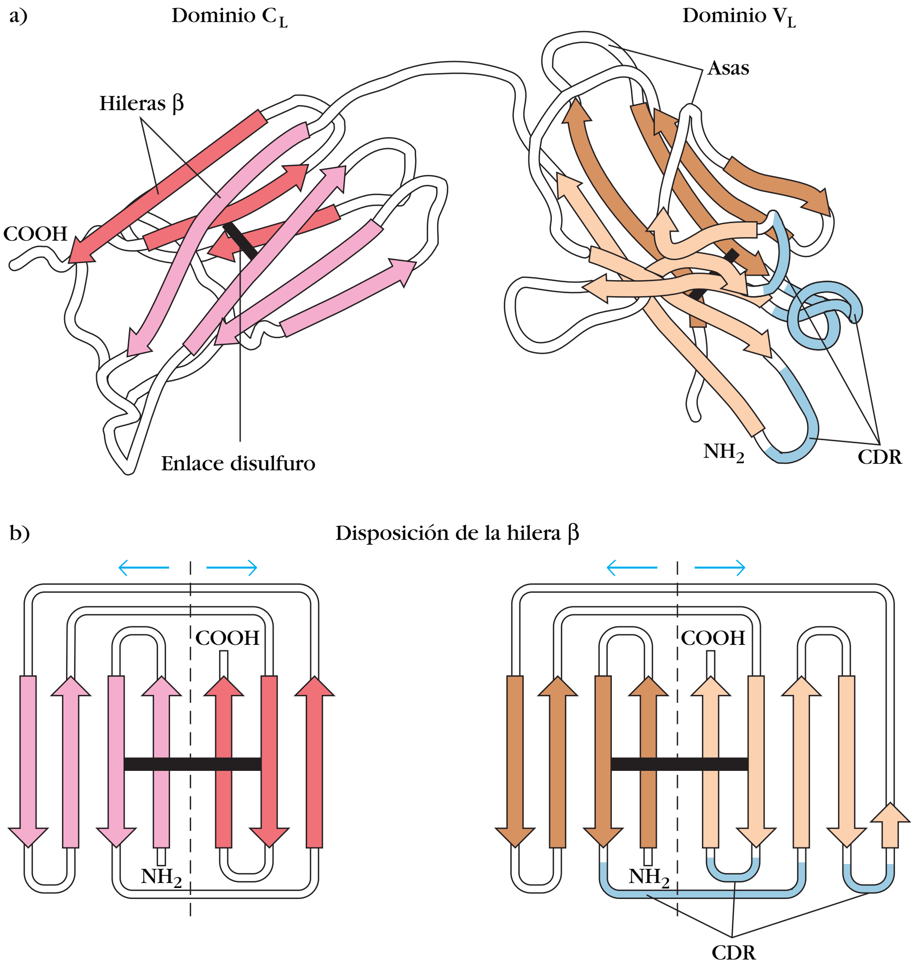


FIGURA 4-11 a) Diagrama de una cadena ligera de inmunoglobulina que muestra la estructura del pliegue de inmunoglobulina de sus dominios variable y constante. Las dos láminas plegadas β en cada dominio se conservan juntas por interacciones hidrófobas y el enlace disulfuro se mantiene. Las hileras β que componen cada lámina se muestran en colores diferentes. Las secuencias de aminoácidos en las tres asas de cada dominio variable muestran una considerable diferencia; estas regiones hipervariables (azul) constituyen el sitio de unión de antígeno. Las regiones hipervariables suelen denominarse CDR (regiones determinantes de complementariedad). Los dominios de cadena pesada tienen la misma estructura característica. b) Las láminas plegadas β se abrieron para mostrar la relación de las hileras β individuales y las asas de unión. Obsérvese que el dominio variable contiene dos hileras β más que el dominio constante. *[Parte a adaptada de M. Schiffer et al., 1973,* Biochemistry ***12:****4620; reimpreso con autorización; parte b adaptada de A. F. Williams y A. N. Barclay, 1988,* Annual Review of Immunology ***6:****381.]*

V_H de anticuerpos humanos revelan que la variación máxima se observa en las porciones de la secuencia que corresponden a las asas que unen las hileras β (fig. 4-12). Estas áreas se denominaron de manera inicial **regiones hipervariables** en reconocimiento a su gran variabilidad. Las regiones hipervariables forman el sitio de unión a antígeno de la molécula de anticuerpo. Debido a que el sitio de unión a antígeno es complementario a la estructura del epítopo, estas áreas se llaman en la actualidad **regiones determinantes de complementariedad (CDR)**. Las CDR de tres cadenas pesadas y tres ligeras se hallan en las asas que conectan las hileras β de los dominios V_H y V_L. El resto de los dominios V_H y V_L muestran bastante menos variación; estos tramos se conocen como **regiones armazón** (**FR**, del inglés *framework regions*). La amplia gama de especificidades que poseen los anticuerpos se debe a variaciones de la longitud y secuencia de aminoácidos de las seis CDR en cada fragmento Fab. La región armazón actúa como un esqueleto que confiere soporte a estas seis asas. Las estructuras tridimensionales de las regiones armazón de casi todos los anticuerpos analizados hasta la fecha pueden superponerse entre sí; en contraste, las asas hipervariables (es decir, las CDR) son esencialmente exclusivas de cada anticuerpo.

Las CDR unen antígeno

El descubrimiento de que las CDR son las regiones de unión a antígeno de los anticuerpos se confirmó de modo directo sometiendo complejos de antígeno y anticuerpo a cristalografía con rayos X de alta resolución. Se ha completado el análisis cristalográfico de muchos fragmentos Fab de anticuerpos monoclonales en complejo con antígenos proteínicos globulares grandes o con varios antígenos más pequeños, incluidos carbohidratos, ácidos nucleicos, péptidos y haptenos pequeños. Además, se ha determinado la estructura completa de varios anticuerpos

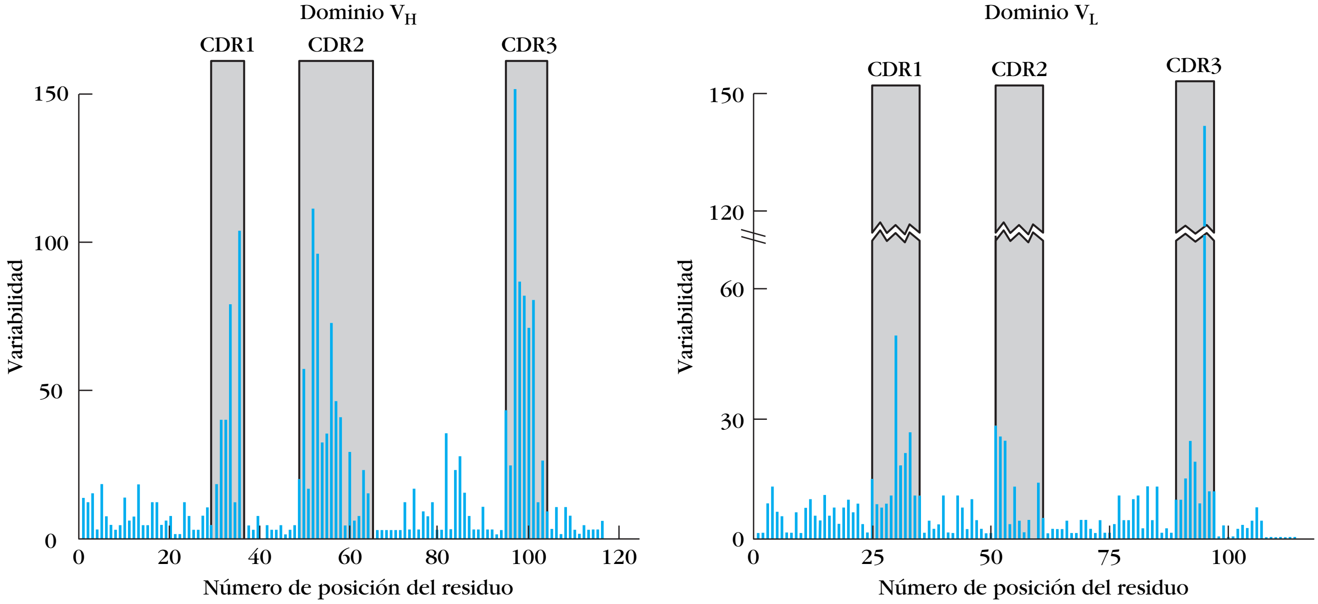


FIGURA 4-12 Variabilidad de aminoácidos en los dominios V_L y V_H de anticuerpos humanos con diferentes especificidades. Se presentan tres regiones hipervariables (HV), también llamadas regiones determinantes de complementariedad (CDR), tanto en los dominios V de cadena pesada como en los de cadena ligera. Como se muestra en la figura 4-11 *(derecha)*, las tres regiones HV en el dominio V de cadena ligera se aproximan entre sí en la estructura plegada. Lo mismo se observa en el dominio V de la cadena pesada. *[Basada en E. A. Kabat et al., 1977,* Sequence of Immunoglobulin Chains, *U.S. Dept. of Health, Education, and Welfare.]*

monoclonales intactos. El análisis de difracción de rayos X de complejos de antígeno y anticuerpo demostró que varias CDR pueden entrar en contacto con el antígeno, y se han observado varios complejos en que las seis CDR están en contacto con el antígeno. Al parecer, en las CDR de la cadena pesada más residuos hacen contacto con antígeno que en las CDR de la cadena ligera. En otras palabras, el dominio V_H a menudo contribuye más a la unión de antígeno que el dominio V_L. La función dominante de la cadena pesada en la unión de antígeno se demostró en un estudio en el que una cadena pesada individual específica para un antígeno glucoproteínico del virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) se combinó con diversas cadenas ligeras de diferente especificidad antigénica (cap. 20). Todos los anticuerpos híbridos se unieron al antígeno glucoproteínico del VIH, lo que indicó que la cadena pesada sola fue suficiente para conferir especificidad. Sin embargo, no debe concluirse que la cadena ligera es en gran parte irrelevante; en algunas reacciones de anticuerpo y antígeno, la cadena ligera lleva a cabo la mayor contribución.

Las imágenes generadas por computadora de la interacción entre un antígeno del virus de la gripe y anticuerpo revelan de manera impresionante la naturaleza de la superficie de contacto entre anticuerpo y antígeno (fig. 4-13). Los contactos entre un

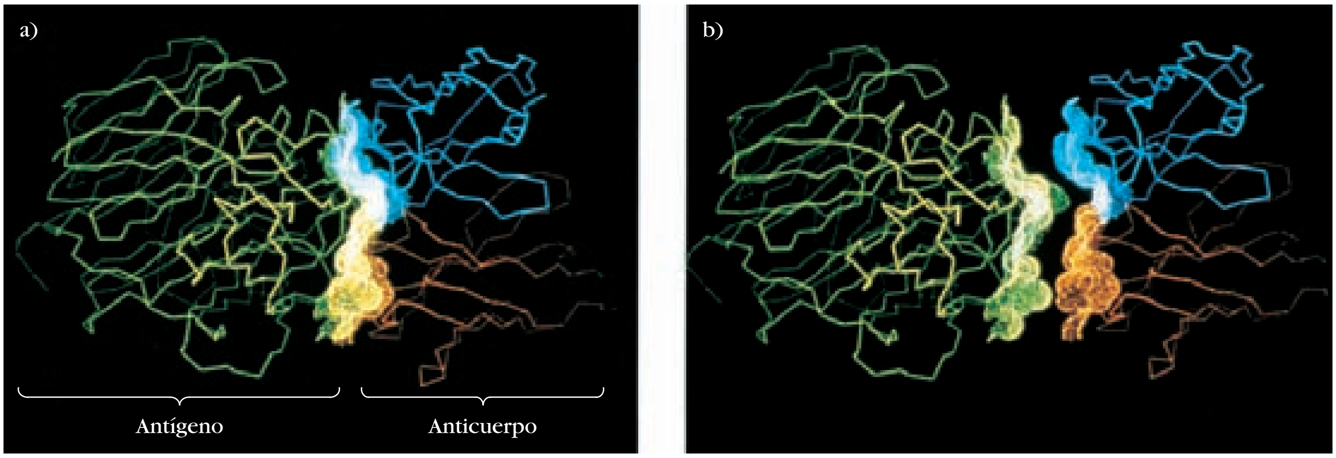


FIGURA 4-13 Simulación por computadora de una interacción entre anticuerpo y antígeno del virus de la influenza, una proteína globular. a) Se muestra el antígeno (amarillo) en interacción con la molécula de anticuerpo; la región variable de la cadena pesada es roja y la región variable de la cadena ligera es azul. b) La complementariedad de las dos moléculas se revela al separar en 8 Å el antígeno del anticuerpo. *[Basada en datos de cristalografía con rayos X obtenidos por P. M. Colman y W. R. Tulip. Tomado de G. J. V. H. Nossal, 1993,* Scientific American ***269****(3):22.]*

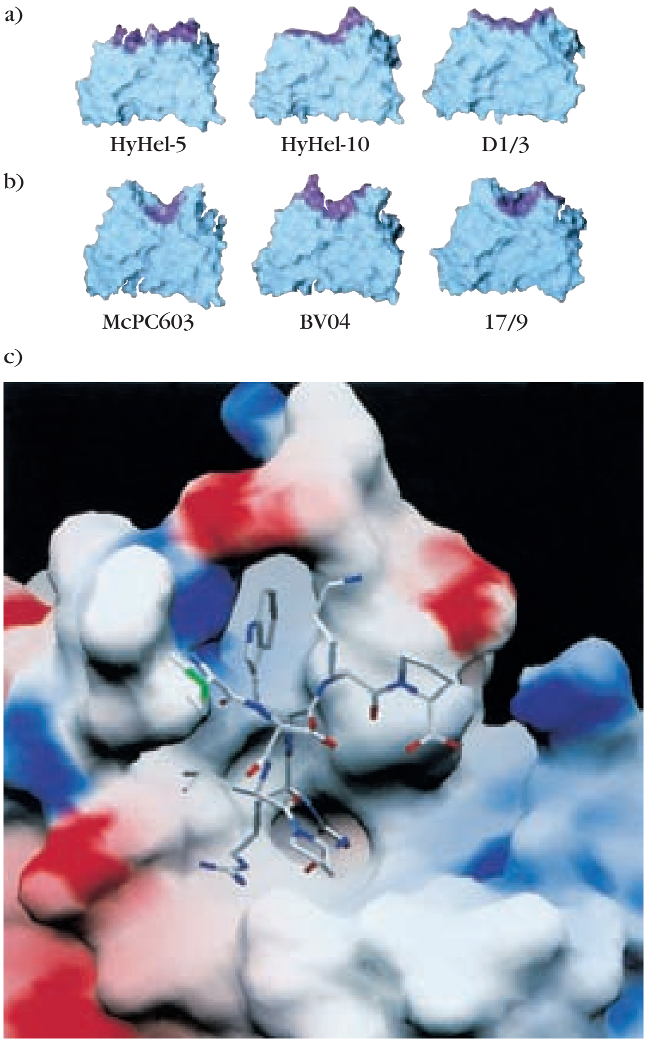


FIGURA 4-14 Sitios de unión a anticuerpo. En general, los sitios de unión para moléculas pequeñas son bolsillos profundos, mientras que para proteínas grandes son superficies más planas y onduladas. a, b) Modelos de los dominios variables de seis fragmentos Fab con sus regiones de unión de antígeno en púrpura. Los tres anticuerpos de la parte superior son específicos para lisozima, una proteína globular grande. Los tres anticuerpos inferiores son específicos para moléculas más pequeñas o segmentos muy pequeños de macromoléculas: McPC603 para fosfocolina; BV04 para un segmento pequeño de una molécula de DNA monocatenario; y 17/9 para un péptido de hemaglutinina, una proteína de envoltura del virus de la influenza. c) Acercamiento del complejo entre un péptido derivado de proteasa de VIH y un fragmento Fab de un anticuerpo antiproteasa. *[a, b Tomadas de I. A. Wilson y R. L. Stanfield, 1993,* Current Opinion in Structural Biology ***3:****113; c) de J. Lescar et al., 1997,* Journal of Molecular Biology ***267:****1207, por cortesía de G. Bentley, Institute Pasteur.]*

antígeno proteínico globular grande y el anticuerpo ocurren en una superficie ancha y ondulada, a menudo bastante plana. En el área de contacto, protuberancias o depresiones en el antígeno parecen embonar de manera complementaria con depresiones o protuberancias en la superficie de unión del anticuerpo, formadas por CDR. En el caso del bien estudiado sistema lisozima/antilisozima, estudios cristalográficos han mostrado que las áreas superficiales de interacción son bastante grandes, en el intervalo aproximado de 650 Å^2 a más de 900 Å^2. Dentro de esta área, unos 15 a 22 aminoácidos del anticuerpo entran en contacto con una cantidad similar de residuos en el antígeno proteínico.

En la figura 4-14 se observa que antígenos proteínicos globulares y pequeños antígenos peptídicos o haptenos interactúan con anticuerpos de distintos modos. Típicamente, grandes áreas de los antígenos proteínicos embonan en grandes áreas del sitio de unión del anticuerpo (fig. 4-14a). Antígenos más pequeños, por ejemplo peptídicos, ocupan menos espacio y pueden ajustar en bolsillos o hendiduras en el sitio de unión (fig. 4-14b). La interacción de un péptido derivado de proteasa del VIH y un fragmento Fab de un anticuerpo antiproteasa ilustra de manera atractiva la íntima complementariedad entre anticuerpo y antígeno de menor tamaño (fig. 4-14c).

La unión de antígeno puede inducir cambios conformacionales

A medida que se completaron más análisis cristalográficos con rayos X de fragmentos Fab, resultó evidente que en algunos casos la unión de antígeno induce cambios de conformación en el anticuerpo, el antígeno, o ambos. Un notable efecto de cambio conformacional se observa en la formación del complejo entre el fragmento Fab y su epítopo peptídico que se ilustra en la figura 4-15. Con la unión ocurren cambios estructurales signifi-

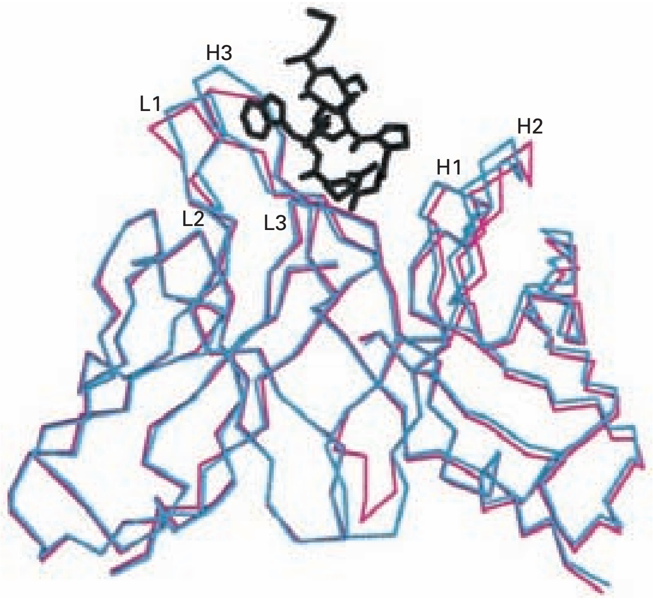


FIGURA 4-15 Cambio conformacional que ocurre al unirse el antígeno y el anticuerpo. Se ilustra el mismo complejo que en la figura 4-14c, entre un péptido derivado de la proteasa del VIH y un fragmento Fab de un anticuerpo antiproteasa, para comparar la estructura del Fab antes y después de la unión del péptido. La línea roja muestra la estructura del fragmento Fab antes de que se una al péptido, y la línea azul muestra su estructura cuando se ha unido. Ocurren cambios conformacionales significativos en las CDR del Fab al unirse el antígeno. Tales cambios son especialmente pronunciados en la CDR1 de cadena ligera (L1) y la CDR3 de cadena pesada (H3). *[Tomada de J. Lescar et al., 1997,* Journal of Molecular Biology ***267:****1207; por cortesía de G. Bentley, Institute Pasteur.]*

cativos en el Fab. La región CDR1 de la cadena ligera se mueve hasta 1 Å, y la CDR3 de la cadena pesada se mueve 2.7 Å. Por lo tanto, además de la variabilidad de la longitud y composición de aminoácidos de las asas de la CDR, la capacidad de estas asas de cambiar en grado significativo de conformación durante la unión del antígeno permite que los anticuerpos adopten una forma complementaria más eficaz con la de sus epítopos.

Como se comentó, los cambios conformacionales después de la unión de antígeno no necesitan limitarse al anticuerpo. Aunque no se muestra en la figura 4-15, la conformación del péptido proteasa unido al Fab no evidencia similitud estructural con el epítopo correspondiente en la proteasa natural del VIH. Se ha sugerido que la inhibición de la actividad de proteasa por este anticuerpo antiproteasa de VIH es un resultado de la distorsión de la conformación de la enzima natural.

Dominios de región constante

Los dominios de región constante de la inmunoglobulina intervienen en varias funciones biológicas determinadas por la secuencia de aminoácidos de cada dominio.

Dominios C_H1 y C_L

Los dominios C_H1 y C_L sirven para extender los brazos Fab de la molécula de anticuerpo, lo que facilita así la interacción con antígeno e incrementa la rotación máxima de los brazos Fab. Además, estos dominios de región constante ayudan a conservar juntos los dominios V_H y V_L (fig. 4-10). Los dominios C_H1 y C_L pueden contribuir a la diversidad de anticuerpos al permitir más asociaciones aleatorias entre los dominios V_H y V_L de las que ocurrirían si las asociaciones se debieran sólo a la interacción V_H/V_L. Estas consideraciones tienen implicaciones de importancia para crear un repertorio diverso de anticuerpos. Como se comenta en el capítulo 5, los reordenamientos aleatorios de los genes de inmunoglobulina generan secuencias V_H y V_L únicas para las cadenas pesada y ligera expresadas por cada linfocito B; la asociación de las secuencias V_H y V_L crea entonces un sitio exclusivo de unión a antígeno. Al parecer, la presencia de los dominios C_H1 y C_L aumenta el número de interacciones V_H y V_L estables que son posibles, lo cual contribuye a la diversidad total de moléculas de anticuerpo que puede expresar un animal.

Región de bisagra

Las cadenas pesadas γ, δ y α contienen una secuencia peptídica extendida entre los dominios C_H1 y C_H2 que carece de homología con los otros dominios (fig. 4-10). Esta zona, llamada **región de bisagra**, es rica en residuos de prolina y es flexible, por lo que suministra a IgG, IgD e IgA flexibilidad segmentaria. Como resultado, los dos brazos Fab pueden asumir varios ángulos entre sí cuando se unen a antígeno. Esta flexibilidad de la región de bisagra puede observarse en micrografías electrónicas de complejos de antígeno y anticuerpo. Por ejemplo, cuando una molécula que contiene dos grupos dinitrofenol (DNP) reacciona con anticuerpo anti-DNP y se captura el complejo en una parrilla teñida negativamente, al microscopio electrónico se reconocen complejos grandes (p. ej., dímeros, trímeros, tetrámeros). El ángulo entre los brazos de las moléculas de anticuerpo en forma de Y difiere en los distintos complejos, lo que refleja la flexibilidad de la región de bisagra (fig. 4-16).

Dos aminoácidos prominentes en la región de bisagra son prolina y cisteína. El gran número de residuos prolina en dicha

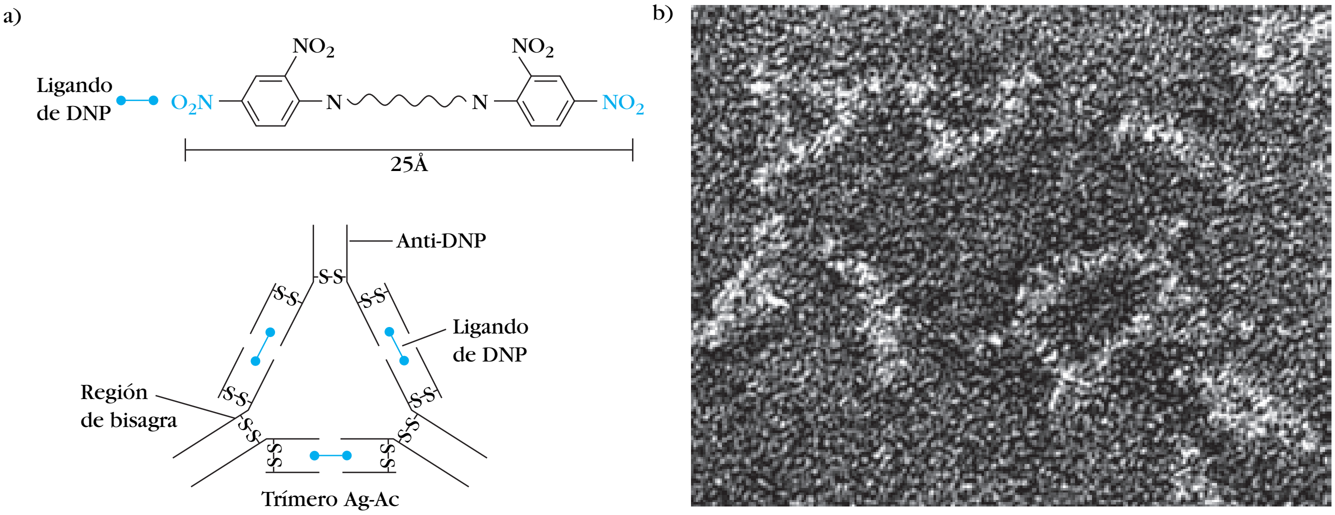


FIGURA 4-16 Demostración experimental de la flexibilidad de la región de bisagra en las moléculas de anticuerpo. a) Un hapteno en el cual están sujetos dos grupos dinitrofenilo (DNP) por un grupo espaciador de unión corto reacciona con anticuerpos anti-DNP para formar trímeros, tetrámeros y otros complejos de antígeno y anticuerpo más grandes. Se muestra un trímero en forma esquemática. b) En una micrografía electrónica de un preparado de estos complejos, teñido de modo negativo, se reconocen con claridad dos estructuras triméricas triangulares. La proteína del anticuerpo se destaca como una estructura clara contra el fondo electrodenso oscuro. Debido a la flexibilidad de la región de bisagra, varía el ángulo entre los brazos de las moléculas de anticuerpo. *[Fotografía de R. C. Valentine y N. M. Green, 1967,* Journal of Molecular Biology ***27****:615; reimpresa con autorización de Academic Press Inc. (Londres) Ltd.]*

región le da una conformación polipeptídica extendida, que la torna en particular vulnerable a la rotura por enzimas proteolíticas; esta región es la que se segmenta con papaína o pepsina (fig. 4-7). Los residuos cisteína forman enlaces disulfuro intercadenas que mantienen unidas las dos cadenas pesadas. El número de enlaces disulfuro intercadenas en la región de bisagra varía considerablemente entre las distintas clases de anticuerpos y entre las especies. Aunque las cadenas μ y ϵ carecen de una región de bisagra, poseen un dominio adicional de 110 aminoácidos (C_H2/C_H2) que tiene características de bisagra.

Otros dominios de la región constante

Como ya se dijo, las cadenas pesadas en IgA, IgD e IgG contienen tres dominios de región constante y una región de bisagra, en tanto que las cadenas pesadas en IgE e IgM incluyen cuatro dominios de región constante y ninguna región de bisagra. Los dominios correspondientes de los dos grupos son:

IgA, IgD, IgG	IgE, IgM
C_H1/C_H1	C_H1/C_H1
Región de bisagra	C_H2/C_H2
C_H2/C_H2	C_H3/C_H3
C_H3/C_H3	C_H4/C_H4

Aunque los dominios C_H2/C_H2 en IgE e IgM ocupan la misma posición en las cadenas polipeptídicas que la región de bisagra en las otras clases de inmunoglobulina, aún no se determina una función para este dominio adicional.

Los análisis cristalográficos con rayos X han revelado que los dos dominios C_H2 de IgA, IgD e IgG (y los dominios C_H3 de IgE e IgM) están separados por cadenas laterales de oligosacárido que impiden el contacto entre los dominios unidos entre sí (fig. 4-9b); como resultado, estos dos dominios globulares son mucho más accesibles que los otros para el ambiente acuoso. Tal accesibilidad es uno de los elementos que contribuyen a la actividad biológica de estos dominios en la activación de los componentes del complemento por IgG e IgM.

El dominio carboxilo terminal se designa C_H3/C_H3 en IgA, IgD e IgG y C_H4/C_H4 en IgE e IgM. Las cinco clases de anticuerpo y sus subclases pueden expresarse como **inmunoglobulina secretada (sIg)** o **inmunoglobulina unida a membrana (mIg)**. El dominio carboxilo terminal de la inmunoglobulina secretada difiere tanto en la estructura como en la función del dominio correspondiente en la inmunoglobulina unida a membrana. La inmunoglobulina secretada tiene una secuencia de aminoácidos hidrófila de longitud variable en el extremo carboxilo terminal. Más adelante se describen las funciones de este dominio en las diversas clases de anticuerpos secretados. En la inmunoglobulina unida a membrana, el dominio carboxilo terminal contiene tres regiones:

- Una secuencia "espaciadora" hidrófila extracelular compuesta de 26 residuos
- Una secuencia transmembranal hidrófoba
- Una cola citoplásmica corta

La longitud de la secuencia transmembranal es constante entre todos los isotipos de inmunoglobulina, mientras que las longitudes de la secuencia espaciadora extracelular y la cola citoplásmica varían.

Las células B expresan diferentes clases de mIg en distintas etapas del desarrollo. La célula B inmadura, llamada precélula B (o, más a menudo, célula pre-B), sólo expresa mIgM; más adelante en la maduración, aparece mIgD y se coexpresa con IgM en la superficie de células B maduras antes que las active un antígeno. Una célula B de memoria puede expresar mIgG, mIgA o mIgE. Incluso cuando se expresan de forma secuencial diferentes clases en una sola célula, es idéntica la especificidad antigénica de todas las moléculas de anticuerpo de membrana expresadas por una misma célula, de tal manera que cada molécula de anticuerpo se une al mismo epítopo. En el capítulo 5 se describe el mecanismo genético que permite que una célula B aislada exprese múltiples isotipos de inmunoglobulina, todos con la misma especificidad antigénica.

Funciones efectoras mediadas por anticuerpo

Además de fijar antígeno, los anticuerpos participan en una extensa gama de otras actividades biológicas. Cuando se considera la función del anticuerpo en las defensas contra una enfermedad, es importante recordar que los anticuerpos casi nunca destruyen o eliminan patógenos con sólo unirse a ellos. Para que sean eficaces contra los microorganismos, los anticuerpos no sólo deben reconocer antígeno, sino también activar reacciones —funciones efectoras— que tienen como resultado la eliminación del antígeno y la muerte del patógeno. Si bien las regiones variables del anticuerpo son los únicos agentes de unión a antígenos, la región constante de la cadena pesada (C_H) tiene a su cargo una diversidad de interacciones colaboradoras con otras proteínas, células y tejidos, que dan por resultado las funciones efectoras de la reacción humoral.

Debido a que estas funciones efectoras son consecuencia de interacciones entre regiones constantes de cadena pesada y otras proteínas séricas o receptores de membrana celular, no todas las clases de inmunoglobulinas poseen las mismas propiedades funcionales. Aquí se presenta una revisión general de cuatro funciones efectoras principales mediadas por dominios de la región constante. Más adelante se describe una quinta función única de la IgE, la activación de células cebadas, eosinófilos y basófilos.

El anticuerpo promueve la opsonización

La **opsonización**, que es la promoción de la fagocitosis de antígenos por macrófagos y neutrófilos, es un factor importante en las defensas antibacterianas. En las superficies de macrófagos y neutrófilos, así como de otras células que no intervienen en la fagocitosis, se encuentran moléculas proteínicas llamadas *receptores Fc (FcR)*, que pueden unir la región constante de moléculas de inmunoglobulina (Ig). La unión de receptores Fc del fagocito por varias moléculas de anticuerpo que forman un complejo con el mismo antígeno blanco, como una célula bacteriana, produce una interacción que fija el agente patógeno a la membrana del fagocito. Este enlace cruzado del FcR por la unión a un conjunto de regiones Fc del anticuerpo inicia una vía de transducción de señales que desemboca en la fagocitosis del complejo de antígeno y anticuerpo. Dentro del fagocito, los patógenos se constituyen en el blanco de varios procesos destructores que incluyen digestión enzimática, daño oxidativo y efectos desorganizadores de la membrana de péptidos antibacterianos.

Los anticuerpos activan el complemento

La IgM, y en el ser humano casi todas las subclases de IgG, pueden activar un conjunto de glucoproteínas séricas llamado sistema del **complemento**, que incluye un grupo de proteínas capaces de perforar membranas celulares. Un subproducto importante de la vía de activación del complemento es un fragmento proteínico denominado C3b, que se une de manera inespecífica a complejos célula-anticuerpo y antígeno-anticuerpo cerca del sitio en que se activó el complemento. Muchos tipos celulares —por ejemplo glóbulos rojos y macrófagos— tienen receptores para C3b y de esa manera fijan células o complejos a los cuales se adhirió C3b. La unión de C3b adherente por macrófagos da lugar a la fagocitosis de las células o complejos moleculares unidos a C3b. La unión de complejos de antígeno y anticuerpo por los receptores C3b de un glóbulo rojo posibilita que el eritrocito lleve los complejos al hígado o el bazo, donde los macrófagos residentes los eliminan sin destruir el glóbulo rojo. Para la desactivación y eliminación de antígenos y la destrucción de patógenos es importante la colaboración entre el anticuerpo y el sistema del complemento. En el capítulo 7 se describe con detalle el proceso de activación del complemento.

La citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo (ADCC) destruye otras células

El enlace de anticuerpo unido a células blanco (p. ej., células del hospedador infectadas por virus) con los receptores Fc de varios tipos celulares, en particular las células asesinas naturales (NK), puede dirigir las actividades citotóxicas de la célula efectora contra la célula blanco. En este proceso, conocido como **citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo** (**ADCC**, del inglés *antibody-dependent cell-mediated cytotoxicity*), el anticuerpo actúa como un receptor recién adquirido que permite que la célula atacante reconozca y destruya la célula blanco. El fenómeno de ADCC se considera en el capítulo 14.

Algunos anticuerpos pueden cruzar capas epiteliales por transcitosis

El transporte de anticuerpo a las superficies mucosas de las vías respiratorias, digestivas y urogenitales, así como su exportación a la leche materna, requiere el paso de inmunoglobulinas a través de capas epiteliales, un proceso llamado **transcitosis**. La capacidad de experimentar este transporte depende de propiedades de la región constante. En el ser humano y los ratones, la IgA es la principal especie de anticuerpo que lleva a cabo dicha transcitosis, aunque también puede transportarse IgM a superficies mucosas. Algunas especies de mamíferos, como el ser humano y el ratón, transfieren asimismo cantidades considerables de la mayor parte de las subclases de IgG de la madre al feto. Debido a que los sistemas circulatorios materno y fetal están separados, el anticuerpo debe ser transportado a través del tejido placentario que separa a la madre y el feto. En seres humanos, dicha transferencia ocurre durante el tercer trimestre del embarazo. La consecuencia relevante es que el feto en desarrollo recibe una muestra del repertorio de anticuerpos de la madre como una dotación protectora contra patógenos. Al igual que las otras funciones efectoras descritas aquí, la capacidad de experimentar el transporte transplacentario depende de las propiedades de la región constante de la molécula de anticuerpo.

La transferencia de IgG de la madre al feto es una forma de **inmunización pasiva**, que es la adquisición de inmunidad por la recepción de anticuerpos preformados en lugar de la producción activa de anticuerpos después de la exposición a antígeno. La capacidad de transferir inmunidad de una persona a otra por la transferencia de anticuerpos es la base de la terapéutica con anticuerpos, un procedimiento médico importante que se practica con amplitud (véase el enfoque clínico).

Clases de anticuerpos y actividades biológicas

Ya se mencionaron brevemente los diversos isotipos y clases de inmunoglobulina. Cada clase se distingue por secuencias de aminoácidos únicas en la región constante de la cadena pesada que confieren propiedades estructurales y funcionales específicas de clase. En esta sección se describen con mayor detalle la estructura y las funciones efectoras de cada clase. En el cuadro 4-4 se resumen las propiedades moleculares y las actividades biológicas de las diferentes clases de inmunoglobulina. En la figura 4-17 se esquematizan las estructuras de las cinco clases principales.

Inmunoglobulina G (IgG)

La IgG, la clase más abundante en el suero, constituye alrededor de 80% del total de las inmunoglobulinas séricas. La molécula de IgG consta de dos cadenas pesadas γ y dos ligeras κ o λ (fig. 4-17a). Existen cuatro subclases de IgG humana, que se reconocen por diferencias en la secuencia de la cadena γ y se numeran conforme a sus concentraciones séricas promedio decrecientes: IgG1, IgG2, IgG3 e IgG4 (cuadro 4-3).

Diferentes genes C_H de la línea germinal, cuyas secuencias de DNA son 90 a 95% homólogas, codifican las secuencias de aminoácidos que caracterizan a las cuatro subclases de IgG. Los rasgos estructurales que diferencian a estas subclases entre sí son el tamaño de la región de bisagra y el número y la posición

CUADRO 4-4 Propiedades y actividades biológicas[*] de las clases y subclases de las inmunoglobulinas séricas humanas

	IgG1	IgG2	IgG3	IgG4	IgA1	IgA2	IgM[‡]	IgE	IgD
Peso molecular[†]	150 000	150 000	150 000	150 000	150 000–600 000	150 000–600 000	900 000	190 000	150 000
Componente de cadena pesada	$\gamma 1$	$\gamma 2$	$\gamma 3$	$\gamma 4$	$\alpha 1$	$\alpha 2$	μ	ϵ	δ
Valor sérico normal (mg/ml)	9	3	1	0.5	3.0	0.5	1.5	0.0003	0.03
Vida media sérica in vivo (días)	23	23	8	23	6	6	5	2.5	3
Activa vías del complemento clásicas	+	+/–	++	–	–	–	++	–	–
Cruza la placenta	+	+/–	+	+	–	–	–	–	–
Se encuentran en la membrana de células B maduras	–	–	–	–	–	–	+	–	+
Se une a receptores Fc de fagocitos	++	+/–	++	+	–	–	?	–	–
Transporte por mucosas	–	–	–	–	++	++	+	–	–
Induce desgranulación de células cebadas	–	–	–	–	–	–	–	+	–

[*] Los valores de la actividad se indican como sigue: ++ = alto; + = moderado; +/– = mínimo; – = ninguno; ? = dudoso.

[†] IgG, IgE e IgD siempre existen como monómeros; IgA puede ser monómero, dímero, trímero o tetrámero. La IgM unida a membrana es un monómero pero secretada en suero es un pentámero.

[‡] IgM es el primer isotipo producido por el recién nacido y en una reacción inmunitaria primaria.

de los enlaces disulfuro intercadenas entre las cadenas pesadas (fig. 4-18). Las sutiles diferencias de aminoácidos entre las subclases de IgG afectan la actividad biológica de la molécula:

- IgG1, IgG3 e IgG4 cruzan con facilidad la placenta y tienen un papel importante en la protección del feto en desarrollo.
- IgG3 es el activador del complemento más eficaz, seguida por IgG1; la IgG2 es menos eficiente y la IgG4 no es capaz de activar complemento en absoluto.
- IgG1 e IgG3 se unen con gran afinidad a receptores Fc en células fagocíticas y, por consiguiente, median la opsonización. La IgG4 tiene afinidad intermedia por receptores Fc, y la IgG2 tiene afinidad en extremo baja.

Inmunoglobulina M (IgM)

La IgM representa 5 a 10% del total de la inmunoglobulina sérica, con concentración sérica promedio de 1.5 mg/ml. La IgM monomérica (180 000 Da) se expresa como un anticuerpo unido a membrana en células B. Las células plasmáticas secretan IgM en la forma de un pentámero en el cual cinco unidades monómero se conservan unidas entre sí por enlaces disulfuro que unen sus dominios de cadena pesada carboxilo terminal ($C_\mu 4/C_\mu 4$) y sus dominios $C_\mu 3/C_\mu 3$ (fig. 4-17e). Las cinco subunidades monoméricas están dispuestas con sus regiones Fc en el centro del pentámero y los 10 sitios de unión a antígeno en la periferia de la molécula. Cada pentámero contiene un polipéptido adicional unido a Fc llamado **cadena J** (del inglés *joining*, de unión), que enlaza el disulfuro al carboxilo terminal del residuo cisteína de dos de las 10 cadenas μ. Al parecer, la cadena J es necesaria para la polimerización de los monómeros a fin de formar IgM pentamérica; se añade inmediatamente antes de la secreción del pentámero.

La IgM es la primera clase de inmunoglobulina que se produce en una respuesta primaria a antígeno y también es la primera inmunoglobulina que sintetiza el recién nacido. Debido a su estructura pentamérica con 10 sitios de unión a antígeno, la IgM sérica tiene valencia más alta que los otros isotipos. Una molécula de IgM puede unir 10 moléculas de hapteno pequeñas; sin embargo, debido al impedimento estérico, sólo suelen unirse de modo simultáneo cinco o menos moléculas de antígenos más grandes. En virtud de su alta valencia, la IgM

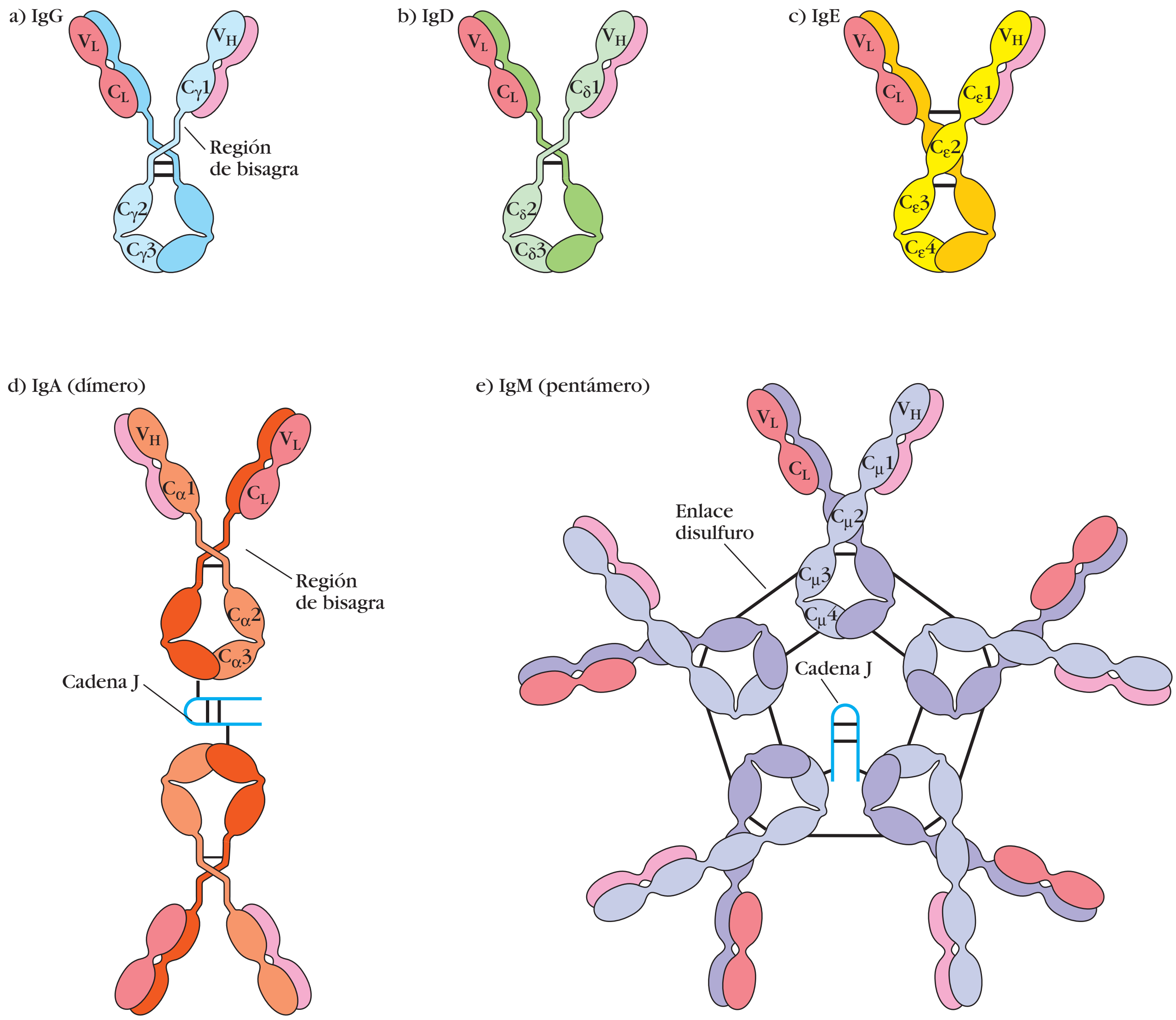

a) IgG
V_L
C_L
V_H
$C_\gamma1$
Región de bisagra
$C_\gamma2$
$C_\gamma3$
b) IgD
V_L
C_L
V_H
$C_\delta1$
$C_\delta2$
$C_\delta3$
c) IgE
V_L
C_L
V_H
$C_\varepsilon1$
$C_\varepsilon2$
$C_\varepsilon3$
$C_\varepsilon4$
d) IgA (dímero)
V_H
V_L
$C_\alpha1$
C_L
Región de bisagra
$C_\alpha2$
$C_\alpha3$
Cadena J
e) IgM (pentámero)
V_L
V_H
C_L
$C_\mu1$
Enlace disulfuro
$C_\mu2$
$C_\mu3$
$C_\mu4$
Cadena J

FIGURA 4-17 Estructuras generales de las cinco clases principales de anticuerpo secretado. Se muestran cadenas ligeras en tonos rosas y los enlaces disulfuro en líneas negras gruesas. Obsérvese que las cadenas pesadas de IgG, IgA e IgD (azul, naranja y verde, respectivamente) contienen cuatro dominios y una región de bisagra, en tanto que las cadenas pesadas de IgM e IgE (púrpura y amarillo, respectivamente) incluyen cinco dominios, pero carecen de región de bisagra. Las formas poliméricas de IgM e IgA contienen un polipéptido, llamado cadena J, que está unido por dos enlaces disulfuro a la región Fc en dos monómeros diferentes. La IgM sérica siempre es un pentámero; casi toda la IgA sérica existe como monómero, aunque en ocasiones se forman dímeros, trímeros e incluso tetrámeros. En estas figuras no se muestran los enlaces disulfuro intracadena y los enlaces disulfuro que unen cadenas ligeras y pesadas (véase fig. 4-6).

pentamérica es más eficiente que otros isotipos para unir antígenos con muchos epítopos repetidos, como partículas víricas y glóbulos rojos. Por ejemplo, cuando se incuban eritrocitos con un anticuerpo específico, se agrupan entre sí en grandes agregados en un proceso llamado **aglutinación**. Se requieren 100 a 1 000 veces más moléculas de IgG que de IgM para lograr el mismo grado de aglutinación. Se observa un fenómeno similar con partículas víricas: se necesita menos IgM que IgG para neutralizar la infectividad vírica. La IgM también es más eficiente que la IgG para activar complemento. La activación del complemento requiere dos regiones Fc en proximidad cercana, y la estructura pentamérica de una molécula aislada de IgM satisface este requerimiento.

En virtud de su gran tamaño, la IgM no se difunde bien y por tanto se encuentra en concentraciones muy bajas en los líquidos intercelulares de los tejidos. La presencia de la cadena J permite que la IgM se una a receptores en células secretorias, que la transportan a través de recubrimientos epiteliales para penetrar en las secreciones externas que bañan superficies mucosas. Aunque la IgA es el isotipo mayor que se halla en estas secreciones, la IgM tiene una función accesoria de importancia como inmunoglobulina secretoria.

ENFOQUE CLÍNICO

Terapéutica pasiva con anticuerpo

En 1890, Emil Behring y Shibasaburo Kitasato notificaron un experimento extraordinario. Inmunizaron conejos con tétanos y a continuación obtuvieron suero de estos animales. Luego inyectaron 0.2 ml del suero inmunitario en la cavidad abdominal de seis ratones. Después de 24 h infectaron a los animales tratados y testigos no tratados con bacteria tetánica viva virulenta. Todos los ratones testigos murieron en el transcurso de las 48 h siguientes a la infección, en tanto que los tratados no sólo sobrevivieron sino que no mostraron efectos de la infección. Este experimento sobresaliente demostró dos puntos importantes. Uno: después de la inmunización aparecieron sustancias en el suero que pudieron proteger a un animal contra los patógenos. Dos: la inmunidad podía adquirirse de modo pasivo. Podía transferirse inmunidad de un animal a otro al extraer suero de un animal inmune e inyectarlo en otro no inmune. Estos experimentos y otros posteriores pasaron inadvertidos. Ambos investigadores recibieron al final títulos (Behring se convirtió en von Behring y Kitasato en el barón Kitasato). Algunos años después, en 1901, se concedió a von Behring el primer premio Nobel de medicina.

Estas observaciones iniciales y otras abrieron el camino para la inmunización pasiva en la práctica clínica. Durante las décadas de 1930 y 1940 se utilizó la inmunoterapia pasiva, esto es, la dotación de resistencia a patógenos mediante la transferencia del agente de inmunidad de un donador inmunizado a un receptor no inmunizado, para prevenir o modificar el curso del sarampión y la hepatitis A. En el transcurso de los siguientes años, la experiencia clínica y los adelantos en la tecnología de elaboración de inmunoglobulinas para inmunización pasiva determinaron que este método fuera una práctica médica estándar. La inmunización pasiva, basada en la transferencia de anticuerpos, se utiliza de manera amplia en el tratamiento de enfermedades de inmunodeficiencia y para proteger contra la exposición prevista a agentes infecciosos contra los cuales la persona no tiene inmunidad.

La inmunoglobulina para inmunización pasiva se elabora a partir de fondos comunes de plasma de miles de donadores. En efecto, los receptores de estos preparados de anticuerpo reciben una muestra de los anticuerpos producidos por muchas personas a una extensa diversidad de diferentes patógenos. De hecho, un gramo de inmunoglobulina intravenosa (IGIV) contiene alrededor de 10^{18} moléculas de anticuerpo (sobre todo IgG) y puede incorporar más de 10^{7} diferentes especificidades de anticuerpo. Durante el curso del tratamiento, los pacientes reciben cantidades importantes de IGIV, por lo general 200 a 400 mg por kilogramo de peso corporal. Eso significa que un paciente inmunodeficiente que pesa 70 kg recibirá 14 a 28 g de IGIV cada tres a cuatros semanas. Un producto derivado de la sangre de un número de donadores tan considerable conlleva el riesgo de contener patógenos, en particular virus. El riesgo es minimizado por los procesamientos que se utilizan para producir la inmunoglobulina intravenosa. La fabricación de IGIV incluye el tratamiento con solventes, como alcohol, y el uso de detergentes muy eficaces para desactivar virus como VIH y el de la hepatitis. Además de eliminar o desactivar agentes infecciosos, el proceso de producción también debe suprimir inmunoglobulina añadida, ya que los agregados de anticuerpo pueden desencadenar la activación masiva de la vía del complemento y provocar anafilaxis grave, incluso letal.

El anticuerpo administrado de manera pasiva ejerce su acción protectora de varias formas. Una de las más importantes es la incorporación de la vía del complemento para destruir o eliminar un patógeno. En infecciones bacterianas, la unión de anticuerpo a superficies bacterianas promueve opsonización, fagocitosis y destrucción de invasores por macrófagos y neutrófilos. Es posible unir y neutralizar por anticuerpo toxinas y virus, incluso cuando el anticuerpo marca el patógeno para eliminarlo del cuerpo mediante fagocitosis y por órganos como el hígado y los riñones. Con el inicio de la citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo (ADCC), los anticuerpos también pueden mediar la destrucción de células blanco por poblaciones de células citotóxicas, como células asesinas naturales.

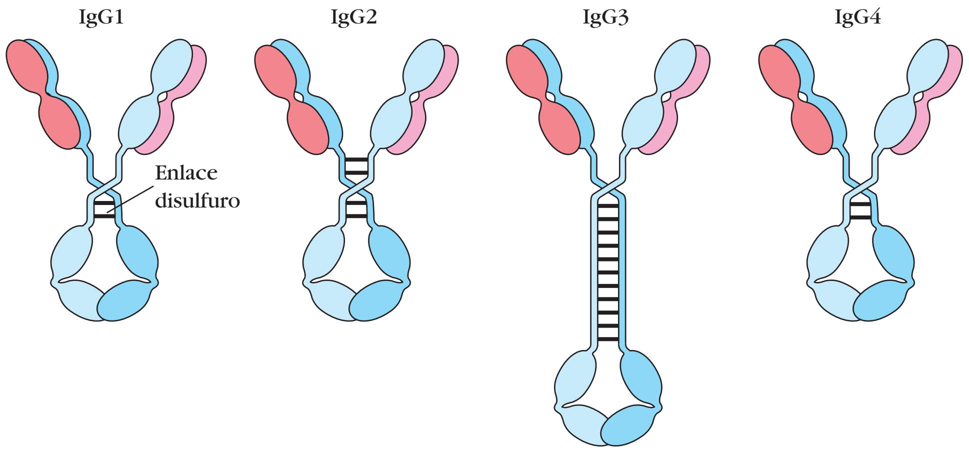
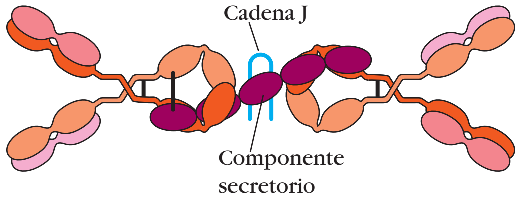


FIGURA 4-18 Estructura general de las cuatro subclases de IgG humana, que difieren en el número y ordenamiento de los enlaces disulfuro intercadena (líneas negras gruesas) que unen las cadenas pesadas. Los 11 enlaces disulfuro intercadena son una característica notable de la IgG3 humana.

Inmunoglobulina A (IgA)

Pese a que la IgA sólo constituye 10 a 15% del total de las inmunoglobulinas séricas, es la clase de inmunoglobulina que predomina en secreciones externas, como leche materna, saliva, lágrimas y moco de las vías bronquiales, genitourinarias y digestivas. En el suero, la IgA existe sobre todo como un monómero, pero en ocasiones se observan formas poliméricas (dímeros, trímeros y algunos tetrámeros), y todas incluyen un polipéptido de cadena J (fig. 4-17d). La IgA de secreciones externas, llamada **IgA secretoria**, consta de un dímero o tetrámero, un polipéptido de cadena J y una cadena polipeptídica llamada **componente secretorio** (fig. 4-19a). Como se explica más adelante, el componente secretorio deriva del receptor que tiene a su cargo transportar la IgA polimérica a través de membranas celulares. El polipéptido de cadena J en la IgA es idéntico al que se encuentra en la IgM pentamérica y tiene la función similar de facilitar la polimerización de la IgA sérica y la IgA secretoria. El componente secretorio es un polipéptido de 70 000 Da producido por células epiteliales de las mucosas. Consiste en cinco dominios parecidos a inmunoglobulina que se unen a los dominios de región Fc del dímero de inmunoglobulina A (IgA). Esta interacción es estabilizada por un enlace disulfuro entre el quinto dominio del componente secretorio y una de las cadenas de la IgA dimérica.

a) Estructura de la IgA secretoria



b) Formación de IgA secretoria

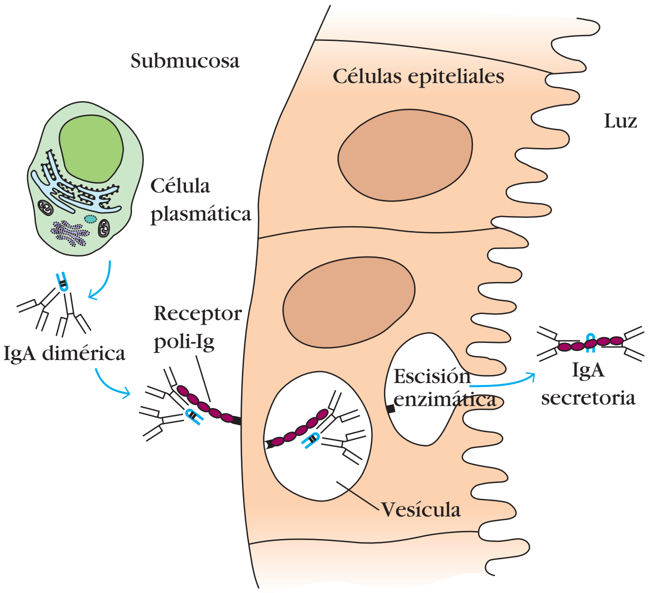


FIGURA 4-19 Estructura y formación de la IgA secretoria. a) La IgA secretoria consiste en cuando menos dos moléculas de IgA, que están unidas de manera covalente entre sí a través de una cadena J y también enlazadas de forma covalente con el componente secretorio. Este último contiene cinco dominios parecidos a Ig y está unido a IgA dimérica por un enlace disulfuro entre su quinto dominio y una de las cadenas pesadas de IgA. b) La IgA secretoria se forma durante el transporte a través de células epiteliales de las mucosas. Se une IgA dimérica a un receptor poli-Ig en la membrana basolateral de una célula epitelial y se internaliza por endocitosis mediada por receptor. Después del transporte del complejo receptor-IgA a la superficie luminal, se segmenta de manera enzimática el receptor poli-Ig y libera el componente secretorio unido a la IgA dimérica.

La producción diaria de IgA secretoria es mayor que la de cualquier otra clase de inmunoglobulinas. Las células plasmáticas que secretan IgA están concentradas a lo largo de superficies mucosas. Por ejemplo, en toda la extensión del yeyuno hay más de 2.5×10^{10} células plasmáticas que secretan IgA, una cifra superior a la población total de células plasmáticas de médula ósea, linfa y bazo en conjunto. Todos los días, un ser humano libera 5 a 15 g de IgA secretoria hacia secreciones mucosas.

Las células B que producen IgA migran de manera preferencial a tejidos subepiteliales y se alojan en ellos, en donde la IgA secretada se une estrechamente a un receptor para moléculas de inmunoglobulina poliméricas (fig. 4-19b). Este **receptor poli-Ig** se expresa en la superficie basolateral de la mayor parte de los epitelios mucosos (p. ej., el recubrimiento de los tractos digestivo, respiratorio y genital) y los epitelios glandulares en las glándulas mamarias, salivales y lagrimales. Una vez que se une IgA polimérica al receptor poli-Ig, el complejo receptor-IgA es transportado a través de la barrera epitelial a la luz. Dicho transporte incluye endocitosis mediada por receptor hacia depresiones cubiertas y transporte dirigido de la vesícula a través de la célula epitelial hasta la membrana luminal, en donde la vesícula se fusiona con la membrana plasmática. A continuación el receptor poli-Ig se escinde de manera enzimática de la membrana y se torna en el componente secretorio, que está unido a IgA polimérica y se libera junto con ella hacia las secreciones mucosas. El componente secretorio oculta sitios susceptibles de segmentación por proteasa en la región de bisagra de la IgA secretoria y permite que la molécula polimérica exista más tiempo en el ambiente mucoso rico en proteasa de lo que sería posible de otra manera. La IgM pentamérica también es transportada a las secreciones mucosas por este mecanismo, aunque constituye un porcentaje mucho más bajo de anticuerpo en las secreciones mucosas que la IgA. El receptor poli-Ig interactúa con la cadena J de los anticuerpos poliméricos IgA e IgM.

La IgA secretoria tiene una función efectora relevante en las superficies mucosas, que son los principales sitios de entrada de la mayor parte de los microorganismos patógenos. Debido a que es polimérica, la IgA secretoria puede formar enlaces cruzados con antígenos grandes que poseen múltiples epítopos. La unión de IgA secretoria a antígenos de superficie bacterianos y víricos impide la fijación de los patógenos a las células mucosas e inhibe, en consecuencia, las infecciones víricas y la formación de colonias bacterianas. Los complejos de IgA secretoria y antígeno quedan atrapados con facilidad en el moco, y luego son eliminados por las células epiteliales ciliadas de las vías respiratorias o el peristaltismo intestinal. Se ha demostrado que la IgA secretoria constituye una importante línea de defensa contra bacterias como *Salmonella*, *Vibrio cholerae*, *Neisseria gonorrhoeae* y virus como los de la poliomielitis y la gripe así como el reovirus.

La leche materna contiene IgA secretoria y muchas otras moléculas que ayudan a proteger al recién nacido contra infecciones durante el primer mes de vida. Debido a que el sistema inmunitario de los lactantes no funciona a plenitud, la lactancia materna tiene un papel esencial en la conservación de la salud de los recién nacidos.

Inmunoglobulina E (IgE)

La actividad biológica potente de la IgE permitió identificarla en el suero a pesar de su concentración sérica promedio en extremo baja (0.3 μg/ml). Los anticuerpos IgE median las reacciones de hipersensibilidad inmediata que causan los síntomas de fiebre del heno, asma, urticaria y choque anafiláctico. En 1921 K. Prausnitz y H. Kustner demostraron por primera vez la presencia de un componente sérico que provoca reacciones alérgicas; estos investigadores inyectaron por vía intradérmica suero de una persona alérgica a un individuo no alérgico. Cuando se inyectó después el antígeno apropiado en el mismo sitio, se presentó una reacción de roncha y rubor (como en la urticaria). Esta reacción, denominada **reacción P-K** (en honor de sus descubridores), fue la base para la primera valoración biológica de la actividad de IgE.

La identificación real de la IgE la llevaron a cabo en 1966 K. y T. Ishizaka, quienes obtuvieron suero de una persona alérgica e inmunizaron conejos con él a fin de obtener antisuero antiisotipo. A continuación se hizo reaccionar el antisuero de conejo con cada clase de anticuerpo humano conocido en esa época (es decir, IgG, IgA, IgM e IgD). De este modo se precipitó y extrajo del antisuero de conejo cada uno de los anticuerpos antiisotipo conocidos. La porción restante fue un anticuerpo antiisotipo específico para una clase de anticuerpo no identificado. El resultado fue que este anticuerpo bloqueó por completo la reacción P-K. El nuevo anticuerpo se denominó IgE (en referencia al antígeno E del polen de la ambrosía, que es un inductor potente de esta clase de anticuerpo).

La IgE se une a receptores Fc en las membranas de basófilos sanguíneos y células cebadas de los tejidos. El enlace cruzado por antígeno (alergeno) de moléculas de IgE unidas al receptor induce a los basófilos y las células cebadas a llevar sus gránulos a la membrana plasmática y liberar su contenido en un ambiente extracelular, un proceso que se conoce como desgranulación. Como resultado, se libera una diversidad de mediadores farmacológicamente activos y aparecen manifestaciones alérgicas (fig. 4-20). La desgranulación de células cebadas localizadas inducida por la IgE también suele liberar mediadores que facilitan la acumulación de diversas células necesarias para la defensa antiparasitaria (cap. 15).

Inmunoglobulina D (IgD)

La IgD se descubrió por primera vez cuando un paciente desarrolló un mieloma múltiple cuya proteína de mieloma no reaccionó con antisuero antiisotipo contra los isotipos conocidos entonces: IgA, IgM e IgG. Cuando se inmunizó a conejos con esta proteína del mieloma, los antisueros resultantes se utilizaron para identificar la misma clase de anticuerpo a concentraciones bajas en suero humano normal. La nueva clase, denominada IgD, tiene una concentración sérica de 30 μg/ml y constituye alrededor de 0.2% de la inmunoglobulina total en suero. Junto con la IgM, la IgD es la principal inmunoglobulina unida a membrana que expresan células B maduras, y se investiga su función en la fisiología de las células B. Aún no se identifica una función biológica efectora de la IgD.

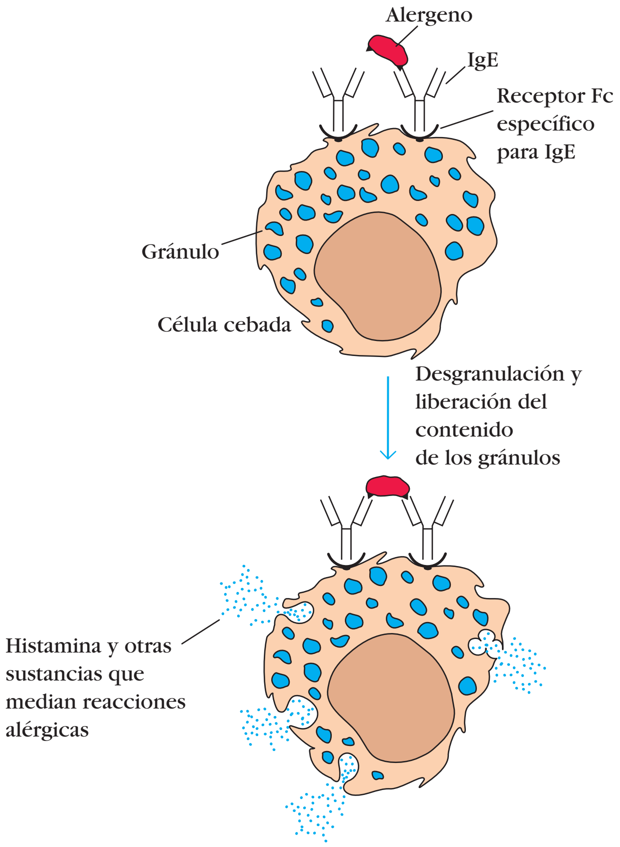
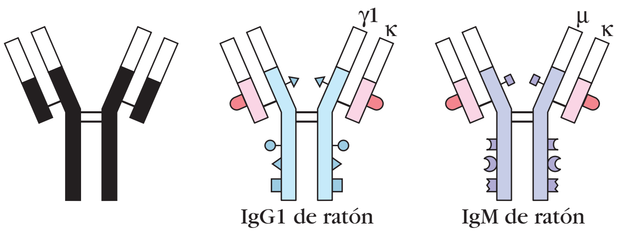

Alergeno
IgE
Receptor Fc específico para IgE
Gránulo
Célula cebada
Desgranulación y liberación del contenido de los gránulos
Histamina y otras sustancias que median reacciones alérgicas

FIGURA 4-20 El enlace cruzado del alergeno de IgE unido a receptor en células cebadas induce desgranulación y da lugar a la liberación de sustancias (puntos azules) que median manifestaciones alérgicas.

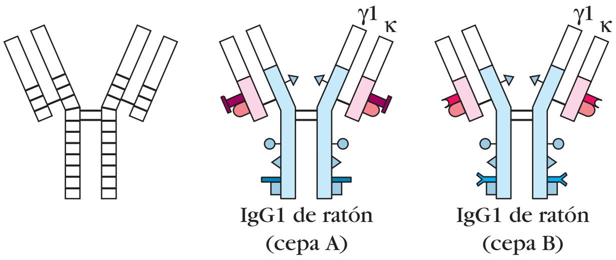
Determinantes antigénicos en inmunoglobulinas

Debido a que los anticuerpos son glucoproteínas, pueden funcionar por sí mismos como inmunógenos potentes para inducir una reacción de anticuerpo. Estos anticuerpos anti-Ig son instrumentos potentes para el estudio del desarrollo de la célula B y las respuestas inmunitarias humorales. Los determinantes antigénicos o epítopos en las moléculas de inmunoglobulina corresponden a tres categorías principales: los determinantes isotípico, alotípico e idiotípico, que se localizan en porciones características de la molécula (fig. 4-21).

a) Determinantes isotípicos



b) Determinantes alotípicos



c) Determinantes idiotípicos

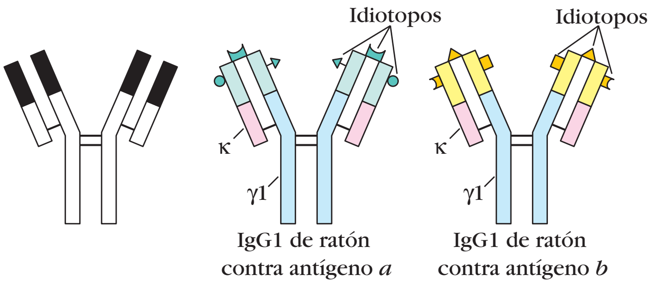

Idiotopos
Idiotopos
κ
γ1
κ
γ1
IgG1 de ratón contra antígeno *a*
IgG1 de ratón contra antígeno *b*

FIGURA 4-21 Determinantes antigénicos de inmunoglobulina. Se muestra para cada tipo de determinante su localización general dentro de la molécula de anticuerpo (*izquierda*) y se incluyen dos ejemplos (*centro* y *derecha*). a) Los determinantes isotípicos son determinantes de región constante que distinguen cada clase y subclase de Ig dentro de una especie. b) Los determinantes alotípicos son diferencias sutiles de aminoácidos codificadas por distintos alelos de genes de isotipo. Pueden reconocerse las diferencias alotípicas al comparar la misma clase de anticuerpo entre diferentes cepas endogámicas. c) Los determinantes idiotípicos se generan por la conformación de las secuencias de aminoácidos de las regiones variables de cadenas pesada y ligera específicas para cada antígeno. Cada determinante individual se llama idiotopo, y la suma de los idiotopos individuales es el idiotipo.

Isotipo

Los isotípicos son determinantes de región constante que en conjunto definen cada clase y subclase de cadena pesada y cada tipo y subtipo de cadena ligera dentro de una especie (fig. 4-21a). Un gen de región constante separado codifica cada isotipo, y todos los miembros de una especie llevan los mismos genes de región constante (que pueden incluir múltiples alelos). Dentro de una especie, cada individuo normal expresa todos los isotipos en el suero. Las diferentes especies heredan genes de región constante distintos y por consiguiente expresan diferentes isotipos. Así, cuando se inyecta el anticuerpo de una especie a otra, se reconocen los determinantes isotípicos como extraños e inducen una reacción de anticuerpo a los determinantes isotípicos del anticuerpo extraño. El anticuerpo antiisotipo se emplea de manera sistemática con fines de investigación para precisar la clase o subclase de anticuerpo sérico que se produce durante una respuesta inmunitaria o con el fin de caracterizar la clase de anticuerpo unido a membrana que se encuentra en células B.

Alotipo

Aunque todos los miembros de una especie heredan el mismo conjunto de genes de isotipo, existen múltiples alelos para algunos de los genes (fig. 4-21b). Estos alelos codifican diferencias sutiles de aminoácidos, llamadas determinantes alotípicos, que ocurren en algunos miembros de una especie. La suma de los determinantes alotípicos individuales que muestra un anticuerpo establece su **alotipo**. En el ser humano se han caracterizado los alotipos para las cuatro subclases de IgG, una subclase de IgA y la cadena ligera κ. Los alotipos de cadena γ se denominan marcadores Gm. Se han identificado cuando menos 25 diferentes alotipos Gm; se designan por la clase y subclase seguidas por el número de alelo, por ejemplo G1m(1), G2m(23), G3m(11), G4m(4a). De las dos subclases de IgA, sólo la IgA2 tiene alotipos, A2m(1) y A2m(2). La cadena ligera κ tiene tres alotipos, que se designan κm(1), κm(2) y κm(3). Cada uno de estos determinantes alotípicos posee diferencias en uno a cuatro aminoácidos que codifican distintos alelos del mismo gen.

Es posible producir anticuerpo contra determinantes alotípicos al inyectar anticuerpos de un individuo a otro de la misma especie que tiene diferentes determinantes alotípicos. En ocasiones, la madre produce durante el embarazo anticuerpo contra determinantes alotípicos en respuesta a determinantes alotípicos paternos en las inmunoglobulinas fetales. Los anticuerpos contra determinantes alotípicos también pueden formarse por una transfusión sanguínea.

Idiotipo

La secuencia de aminoácidos única de los dominios V_H y V_L de un anticuerpo determinado puede funcionar no sólo como un sitio de unión de antígeno, sino también como un grupo de determinantes antigénicos. Los determinantes idiotípicos se forman a partir de la secuencia de las regiones variables de las cadenas pesada y ligera. Cada determinante antigénico individual de la región variable se conoce como **idiotopo** (fig. 4-21c). Cada anticuerpo presentará múltiples idiotopos, algunos de los cuales son el verdadero sitio de unión de antígeno, mientras que otros comprenden secuencias de región variable fuera del sitio de unión. La suma de los idiotopos individuales se denomina **idiotipo** del anticuerpo.

Debido a que los anticuerpos producidos por células B individuales derivadas de la misma clona tienen secuencias de región variable idénticas, todos poseen el mismo idiotipo. El anticuerpo antiidiotipo se forma al inyectar anticuerpos que tienen una variación mínima en sus isotipos y alotipos, de tal manera que es factible reconocer la diferencia idiotípica. Con frecuencia se utiliza un anticuerpo homogéneo, como la proteína de mieloma o un anticuerpo monoclonal. La inyección de dicho anticuerpo a un receptor genéticamente idéntico al donador induce la formación de anticuerpo antiidiotipo contra los determinantes idiotípicos.

Receptor de célula B

Desde hace tiempo, los inmunólogos parecen confundidos acerca de la forma en que la mIg media una señal de activación después del contacto con un antígeno. El dilema radica en que todos los isotipos de la mIg tienen colas citoplásmicas muy cortas: las colas citoplásmicas de mIgM y mIgD sólo contienen tres aminoácidos, la cola de mIgA 14 aminoácidos y las colas de mIgG y mIgE 28 aminoácidos. En cada caso, la cola citoplásmica es muy corta para ser capaz de relacionarse con moléculas intracelulares de señalización (p. ej., tirosincinasas y proteínas G).

La respuesta a este acertijo es que la mIg no constituye la totalidad del receptor de unión de antígeno en las células B. Más bien, el **receptor de célula B (BCR)** es un complejo proteínico transmembranal compuesto de mIg y heterodímeros enlazados por disulfuro llamados Ig-α/Ig-β. Las moléculas de este heterodímero se vinculan con una molécula de mIg para formar un BCR (fig. 4-22). La cadena de Ig-α presenta una cola citoplásmica larga que contiene 61 aminoácidos; la cola de la cadena de Ig-β posee 48 aminoácidos. Las colas de Ig-α e Ig-β son lo bastante largas para interactuar con moléculas intracelulares de señalización. El descubrimiento del heterodímero Ig-α/Ig-β por Michael Reth y colaboradores, al inicio de la década de 1990, amplió en grado notable el conocimiento de la activación de la célula B, que se analiza con detalle en el capítulo 11.

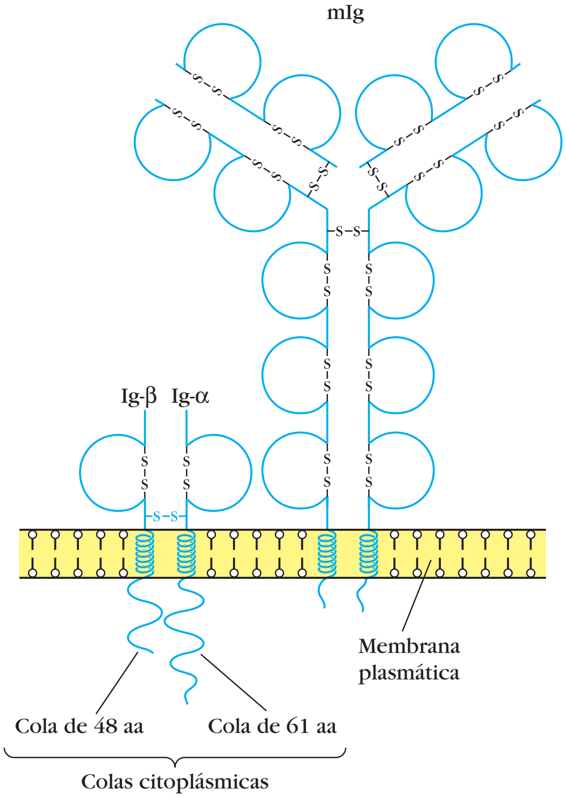


FIGURA 4-22 Estructura general del receptor de célula B (BCR). Este receptor que une antígeno se integra con inmunoglobulina unida a membrana (mIg) y heterodímeros enlazados por disulfuro llamados Ig-a/Ig-b. Cada heterodímero contiene la estructura de pliegue de inmunoglobulina y colas citoplásmicas mucho más largas que las de mIg. Como se muestra, una molécula mIg se relaciona con un heterodímero Ig-a/Ig-b. *[Adaptada de A. D. Keegan y W. E. Paul, 1992,* Immunology Today ***13****:63; y M. Reth, 1992,* Annual Review of Immunology ***10****:97.]*

Los receptores Fc se enlazan con regiones Fc de anticuerpos

Aunque la biosíntesis y la expresión superficial de inmunoglobulinas es exclusiva del linaje de células B, muchas células poseen glucoproteínas de membrana llamadas **receptores Fc (FcR)**, con afinidad por las porciones Fc de las moléculas de anticuerpo secretadas. Estos receptores son esenciales para muchas de las funciones biológicas de los anticuerpos. Los receptores Fc tienen a su cargo el paso de anticuerpos a través de las membranas celulares y la transferencia de IgG de la madre al feto a través de la placenta. Dichos receptores también permiten la adquisición pasiva de anticuerpos por muchos tipos de células, entre ellos linfocitos B y T, neutrófilos, células cebadas, eosinófilos, macrófagos y células asesinas naturales. En consecuencia, los receptores Fc proporcionan un medio por el cual los anticuerpos —los productos del sistema inmunitario adaptativo— pueden incorporar elementos celulares fundamentales de la inmunidad innata como macrófagos y células asesinas naturales. La inclusión de antígenos unidos a anticuerpo por los receptores Fc de macrófagos o neutrófilos proporciona una señal eficaz para la fagocitosis eficiente (opsonización) de complejos de antígenos y anticuerpos. Además de desencadenar funciones efectoras como opsonización o ADCC, el enlace cruzado (mediado por antígeno) de receptores Fc de anticuerpos unidos a FcR puede generar señales inmunorreguladoras que afectan la activación celular, inducen diferenciación y en algunos casos disminuyen las respuestas celulares.

Existen muchos receptores Fc diferentes (fig. 4-23). El receptor poli-Ig es esencial para el transporte de inmunoglobulinas poliméricas (IgA polimérica y en alguna medida IgM pentamérica) a través de las superficies epiteliales. En seres humanos, el **receptor Fc neonatal (FcR_N)** transfiere IgG de la madre al feto durante el embarazo y también actúa en la regulación de las concentraciones séricas de IgG. Se han descubierto receptores Fc para muchas clases de inmunoglobulina (Ig). Así, en el ser humano se encuentran un receptor FcαR que une IgA, un FcϵR que une IgE (véase también fig. 4-20), y algunas variedades de FcγR (RI, RII-A, RII-BI, RII-B2, RIII) capaces de unir IgG y sus subclases. En muchos casos, el enlace cruzado de estos receptores por la unión de complejos de antígeno y anticuerpo tiene como resultado el inicio de cascadas de transducción de señales que originan fenómenos como fagocitosis o citotoxicidad celular mediada por anticuerpo (ADCC). El receptor Fc suele ser parte de un complejo de transducción de señales que incluye la

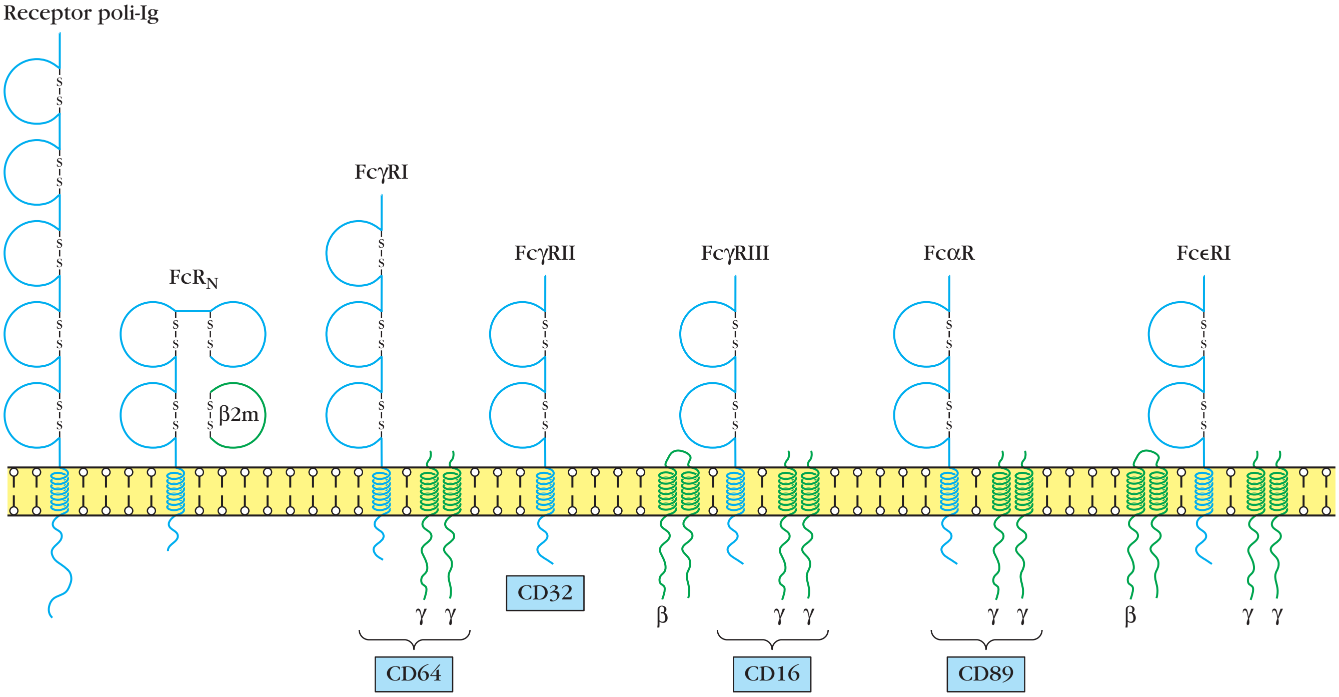


FIGURA 4-23 **Estructura de varios receptores Fc humanos.** Se muestran en azul los polipéptidos de unión Fc y, cuando existen, los polipéptidos accesorios de transducción de señales, en verde. Las asas en estas estructuras representan porciones de la molécula con la estructura característica de pliegue de inmunoglobulina. Estas moléculas aparecen en la membrana plasmática como antígenos de superficie celular y, como se indica en la figura, a muchas se les ha asignado la sigla CD (del inglés *clusters of differentiation*, grupos de diferenciación; véase Apéndice 1). El FcγRII tiene tres formas distintas, A, B1 y B2, que difieren en sus regiones intracelulares. *[Adaptada de M. Daeron, 1999, en* The antibodies, *M. Zanetti y J. D. Capra, eds., vol. 5, p. 53, Harwood Academic Publishers, Amsterdam.]*

participación de otras cadenas polipeptídicas accesorias. Como se muestra en la figura 4-23, esto puede incluir un par de cadenas γ o, en el caso del receptor IgE, un ensamblaje más complejo de dos cadenas γ y una β. En el receptor de células B se observó la relación de un receptor extracelular con una unidad intracelular transductora de señales (fig. 4-22), y es una característica central del complejo receptor célula T (cap. 9).

Superfamilia de las inmunoglobulinas

Las estructuras de las diversas cadenas pesadas y ligeras de las inmunoglobulinas descritas con anterioridad comparten varias características, lo que sugiere que poseen un ancestro evolutivo común. En particular, todas las clases de cadenas pesadas y ligeras tienen la estructura del dominio del pliegue de inmunoglobulina (fig. 4-8). La presencia de esta estructura característica en todas las cadenas pesadas y ligeras de las inmunoglobulinas indica que los genes codificadores provienen de un gen primordial común que codifica un polipéptido de unos 110 aminoácidos. La duplicación del gen y la divergencia ulterior pudieron generar entonces los diversos genes de cadenas pesada y ligera.

Se ha demostrado que existe un gran número de proteínas de membrana que poseen uno o más homólogos de región para un dominio de las inmunoglobulinas. Cada una de estas proteínas de membrana se clasifica como un miembro de la **superfamilia de las inmunoglobulinas**. Se utiliza el término *superfamilia* para referirse a proteínas cuyos genes correspondientes derivaron de un gen primordial común que codificó la estructura de dominio básica. Estos genes evolucionaron de manera independiente y no comparten una ligadura genética o función. Además de las propias inmunoglobulinas, las proteínas siguientes son miembros representativos de la superfamilia de las inmunoglobulinas (fig. 4-24):

- Heterodímero Ig-α/Ig-β, parte del receptor de células B.
- Receptor poli-Ig, que aporta el componente secretorio a IgA e IgM secretorias.
- Receptores de célula T.
- Proteínas accesorias de células T, que incluyen CD2, CD4, CD8, CD28 y las cadenas γ, δ y ϵ de CD3.
- Moléculas MHC clases I y II.
- Microglobulina β_2, una proteína invariable relacionada con moléculas MHC clase I.
- Varias moléculas de adhesión celular, incluidas VCAM-1, ICAM-1, ICAM-2 y LFA-3.
- Factor de crecimiento derivado de plaquetas.

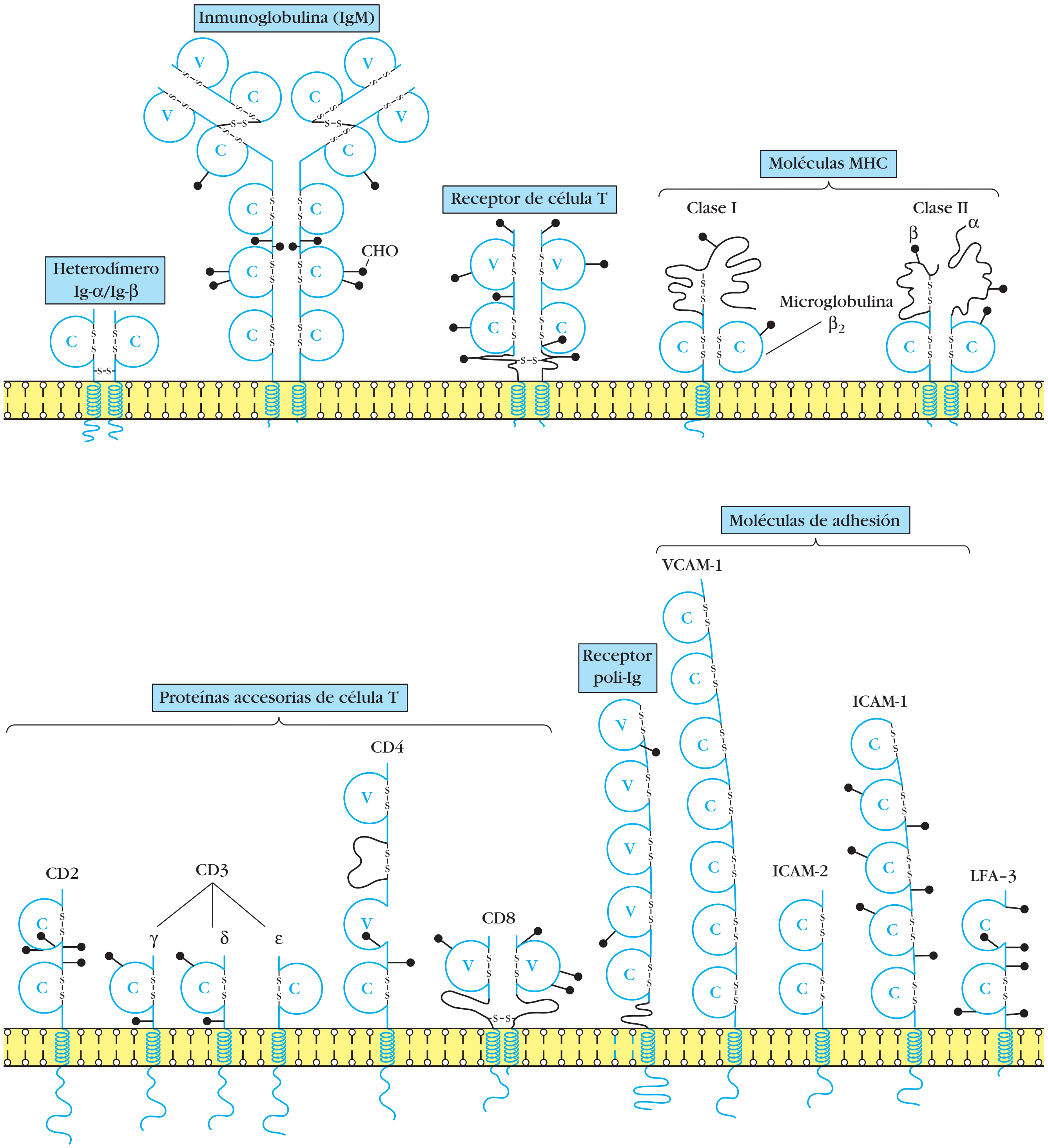

Inmunoglobulina (IgM)
V
C
S–S
CHO
Heterodímero Ig-α/Ig-β
Receptor de célula T
Moléculas MHC
Clase I
Clase II
β
α
Microglobulina β2
Moléculas de adhesión
VCAM-1
Receptor poli-Ig
Proteínas accesorias de célula T
CD4
ICAM-1
ICAM-2
CD2
CD3
γ
δ
ε
CD8
LFA-3

FIGURA 4-24 Algunos miembros de la superfamilia de las inmunoglobulinas, un grupo de glucoproteínas casi siempre unidas a membrana, se relacionan desde el punto de vista estructural. Excepto en la microglobulina β_2, en todos los casos que se muestran aquí el extremo carboxilo terminal de la molécula está fijado a la membrana.

A la superfamilia de las inmunoglobulinas pertenecen asimismo muchas otras proteínas, algunas de las cuales se comentan en otros capítulos.

Aún no se lleva a cabo el análisis cristalográfico con rayos X de todos los miembros de la superfamilia de las inmunoglobulinas. No obstante, la secuencia primaria de aminoácidos de estas proteínas sugiere que todas contienen el dominio típico del pliegue de inmunoglobulina. De manera específica, todos los miembros de la superfamilia de las inmunoglobulinas contienen cuando menos una o más extensiones de alrededor de 110 aminoácidos, capaces de disponerse en láminas plegadas de hileras β antiparalelas, por lo general con un enlace disulfuro intracadena invariable que cierra un asa que abarca 50 a 70 residuos.

Casi ninguno de los miembros de la superfamilia de las inmunoglobulinas puede unir antígeno. Por consiguiente, la estructura característica del pliegue de Ig que se encuentra en tantas proteínas de membrana debe tener alguna función aparte de unir antígeno. Una posibilidad es que dicho pliegue facilite las interacciones entre proteínas de membrana. Como ya se describió, pueden ocurrir interacciones entre las caras de láminas β plegadas de dominios homólogos de la inmunoglobulina (p. ej., interacción C_H2/C_H2) y dominios no homólogos (como interacciones V_H/V_L y C_H1/C_L).

Anticuerpos monoclonales

Como ya se dijo, la mayoría de los antígenos ofrece múltiples epítopos y por consiguiente induce la proliferación y diferenciación de una variedad de clonas de células B, derivadas todas de una célula B que reconoce un epítopo particular. Los anticuerpos séricos resultantes son heterogéneos y comprenden una mezcla de anticuerpos, cada uno específico para un epítopo (fig. 4-25). Esta respuesta de **anticuerpo policlonal** facilita la localización, fagocitosis y lisis de antígeno mediada por complemento; por lo tanto, tiene ventajas claras para el organismo in vivo. Por desgracia, la heterogeneidad de anticuerpos que aumenta la protección inmunitaria in vivo suele reducir la eficacia de un antisuero para varios usos in vitro. Para casi todos los propósitos de investigación, diagnósticos y terapéuticos, son preferibles **anticuerpos monoclonales**, derivados de una sola clona y, por consiguiente, específicos para un solo epítopo.

No es factible la purificación bioquímica directa del anticuerpo monoclonal a partir de un preparado de anticuerpo policlonal. En 1975, Georges Köhler y Cesar Milstein diseñaron un método para obtener anticuerpo monoclonal, que se constituyó con rapidez en una de las tecnologías fundamentales de la inmunología. Mediante la fusión de una célula B productora de anticuerpo activada de modo normal con una célula de mieloma (una célula plasmática cancerosa) pudieron obtener una célula híbrida, llamada **hibridoma**, que poseía las propiedades de crecimiento inmortal de la célula de mieloma y secretaba el

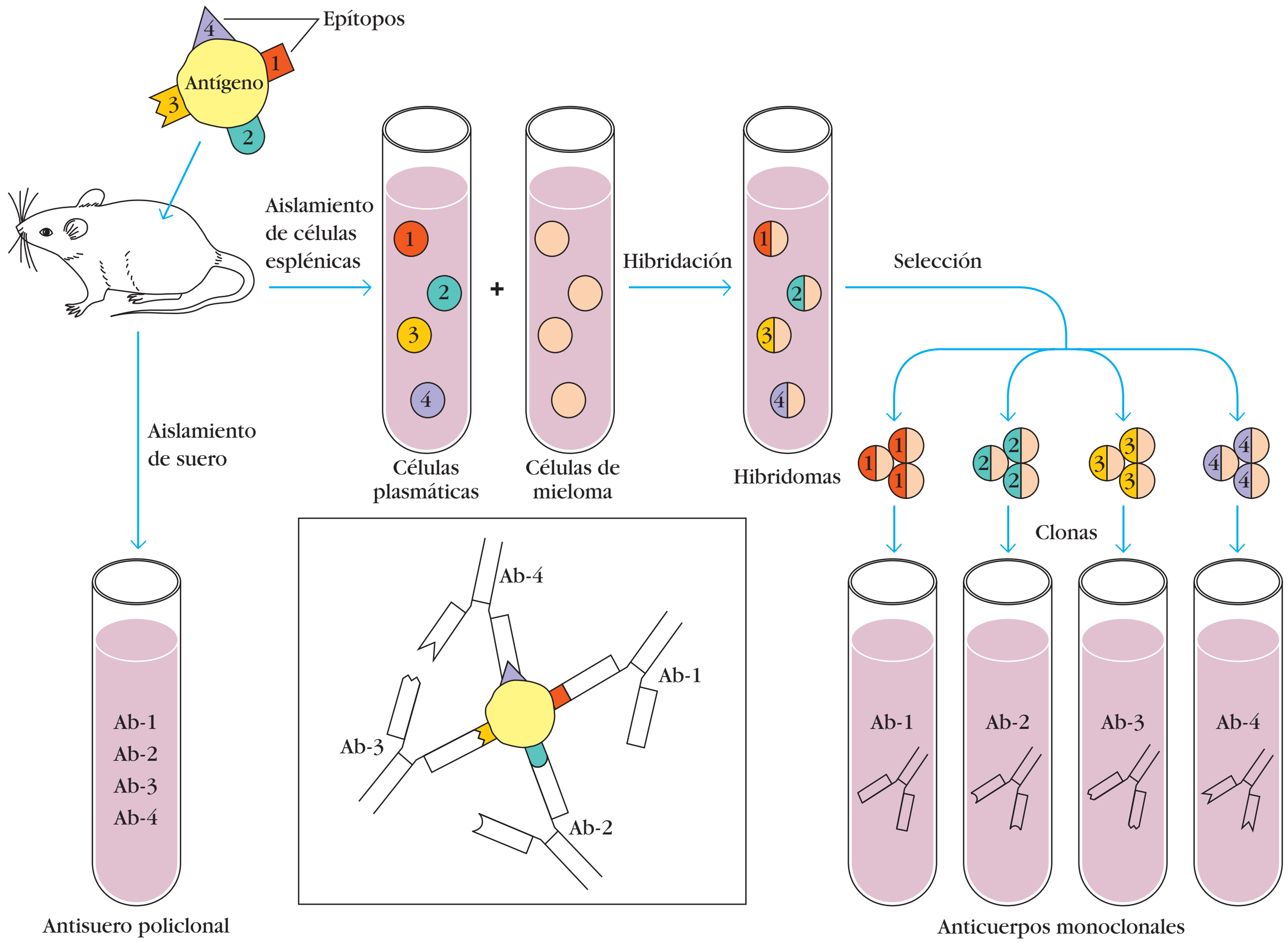


FIGURA 4-25 El antisuero policlonal ordinario que se produce en respuesta a un antígeno complejo contiene una mezcla de anticuerpos monoclonales, cada uno específico para uno de los cuatro epítopos que se muestran en el antígeno (recuadro). En contraste, un anticuerpo monoclonal, que se deriva de una célula plasmática única, es específico para un epítopo en un antígeno complejo. Se ilustra aquí el esbozo del método básico para obtener un anticuerpo monoclonal.

anticuerpo producido por la célula B (fig. 4-25). Las clonas resultantes de células de hibridoma, que secretan grandes cantidades de anticuerpo monoclonal, pueden cultivarse de manera indefinida. El desarrollo de técnicas para producir anticuerpos monoclonales, cuyos detalles se comentan en el capítulo 22, proporcionó a los inmunólogos un instrumento de investigación poderoso y versátil. La importancia del trabajo de Köhler y Milstein se reconoció cuando ambos recibieron el premio Nobel.

Los anticuerpos monoclonales tienen usos clínicos importantes

Los anticuerpos monoclonales están siendo muy útiles como reactivos diagnósticos, imagenológicos y terapéuticos en medicina clínica. Al principio se emplearon sobre todo como reactivos diagnósticos in vitro. Entre los múltiples reactivos diagnósticos de anticuerpo monoclonal disponibles en la actualidad se encuentran productos para detectar embarazo, diagnosticar múltiples microorganismos patógenos, medir las concentraciones sanguíneas de varios fármacos, valorar la compatibilidad de antígenos de histocompatibilidad y reconocer antígenos liberados por ciertos tumores.

También es posible usar in vivo anticuerpos monoclonales radiomarcados con el fin de identificar o localizar antígenos tumorales y posibilitar el diagnóstico más temprano de algunos tumores primarios o metastásicos. Por ejemplo, se marca con yodo-131 el anticuerpo monoclonal contra células de cáncer de mama y se introduce en la sangre para detectar la diseminación de un tumor a ganglios linfáticos regionales. Esta técnica de imagen monoclonal puede revelar metástasis de cáncer de mama que no se reconocerían mediante otras técnicas de estudio menos sensibles.

Como se expone en el enfoque clínico (véase antes), el uso de anticuerpos como agentes terapéuticos tiene una larga historia. En fechas recientes la disponibilidad de anticuerpos monoclonales y la posibilidad de "humanizarlos" por técnicas de ingeniería genética ha dado nuevo ímpetu a este campo. Los primeros intentos de usar anticuerpos monoclonales murinos para tratar a seres humanos enfrentaban la posibilidad de una intensa reacción contra estas proteínas extrañas. En la actualidad, los productos se obtienen en sistemas humanos o mediante ingeniería genética (cap. 5) para incorporar regiones V o CDR de anticuerpos no humanos en regiones C y armazones de anticuerpos humanos, lo que minimiza la posibilidad de inducir una inmunorreacción a ellos.

Hay un número creciente de anticuerpos terapéuticos aprobados, y más de cien nuevos se encuentran en proceso de desarrollo. Éstos representan varios miles de millones de dólares anuales en ventas. Las principales áreas en que la terapia con anticuerpos ha sido útil son el tratamiento del cáncer y el alivio de trastornos artríticos. Los productos rituximab para el tratamiento del linfoma no Hodgkin e infliximab o adalimumab para la artritis reumatoide están entre los más ampliamente usados. Los nombres genéricos de los fármacos indican el tipo de anticuerpo; por ejemplo, el sufijo *-umab* denota un anticuerpo monoclonal humano, mientras que *-imab* denota un anticuerpo quimérico, con secuencias de ser humano y de otras especies.

Las abzimas son anticuerpos monoclonales que catalizan reacciones

La unión de un anticuerpo a su antígeno es similar en muchos sentidos a la unión de una enzima a su sustrato. En ambos casos, la unión incluye interacciones no covalentes y débiles, muestra una especificidad alta y con frecuencia una gran afinidad. Lo que distingue una interacción de anticuerpo y antígeno de la interacción de una enzima y sustrato es que el anticuerpo no altera el antígeno, en tanto que la enzima cataliza un cambio químico en su sustrato. Sin embargo, al igual que las enzimas, los anticuerpos de especificidad apropiada pueden estabilizar el estado de transición de un sustrato unido y reducir así la energía de activación para la modificación química del sustrato.

Las similitudes entre interacciones de antígeno y anticuerpo y de sustrato y enzima suscitaron la pregunta sobre la posibilidad de que algunos anticuerpos puedan actuar como enzimas y catalizar reacciones químicas. Con objeto de investigar esta posibilidad, se sintetizó un complejo de hapteno y portador en el cual el hapteno semejaba estructuralmente el estado de transición de un éster sometido a hidrólisis. Se fusionaron células esplénicas de ratones inmunizados con este análogo de estado de transición con células de mieloma para generar anticuerpos monoclonales antihapteno monoclonal. Cuando se incubaron estos anticuerpos monoclonales con un sustrato éster, algunos de ellos aceleraron la hidrólisis alrededor de 1 000 veces, es decir, actuaron como la enzima que en condiciones normales cataliza la hidrólisis del sustrato. La actividad catalítica de estos anticuerpos fue muy específica; es decir, sólo hidrolizaron ésteres cuya estructura en estado de transición semejaba de modo estrecho el análogo de estado de transición utilizado como un hapteno en el conjugado inmunizante. Estos anticuerpos catalíticos se denominaron **abzimas** en alusión a su función doble de anticuerpo y enzima.

Un objetivo central de la investigación del anticuerpo catalítico es la obtención de un grupo de abzimas que corten enlaces peptídicos en residuos de aminoácidos específicos, tal y como las enzimas de restricción cortan DNA en sitios específicos. Estas abzimas podrían ser instrumentos inestimables en el análisis estructural y funcional de proteínas. Además, quizá sea posible generar abzimas con capacidad de disolver coágulos sanguíneos o segmentar glucoproteínas víricas en sitios específicos y bloquear, en consecuencia, la infectividad del virus. Por desgracia, ha resultado en extremo difícil obtener anticuerpos catalíticos que rompan enlaces peptídicos de proteínas. Gran parte de la investigación que se lleva a cabo en la actualidad en este campo está encaminada a solucionar este importante pero difícil problema.

RESUMEN

- Todos los inmunógenos son antígenos, pero no todos los antígenos son inmunógenos. Por ejemplo, los haptenos son antígenos de molécula pequeña, pero sólo pueden inducir una inmunorreacción (son inmunógenos) cuando se conjugan con una molécula grande.
- La inmunogenicidad depende de muchos factores que incluyen alteridad, tamaño molecular, composición química, complejidad, dosis, susceptibilidad a procesamiento y presentación

de antígeno, genotipo del animal receptor (en particular los genes de MHC), vía de administración y coadyuvantes.

- Los anticuerpos reconocen una amplia variedad de determinantes antigénicos, o epítopos. Los antígenos pequeños a menudo se fijan a estrechos surcos o profundos bolsillos del anticuerpo; los antígenos grandes, como las proteínas globulares, interactúan con una superficie complementaria más grande y plana en la molécula de anticuerpo.
- Una molécula de anticuerpo consta de dos cadenas ligeras idénticas y dos cadenas pesadas idénticas entre sí. Las cadenas ligeras están unidas a las pesadas por enlaces disulfuro, y las pesadas se unen entre sí por el mismo tipo de enlaces. Cada cadena de anticuerpo consta de una región variable amino terminal y una región constante carboxilo terminal.
- En cualquier molécula de anticuerpo dada, la región constante contiene una de las cinco secuencias básicas de cadenas pesadas, llamadas isotipos, que determinan la clase de anticuerpo (μ, IgM; γ, IgG; δ, IgD; α, IgA; ϵ, IgE) y una o dos secuencias básicas de cadenas ligeras (κ o λ) llamadas tipos.
- Las cinco clases de anticuerpo tienen diferentes funciones efectoras, concentraciones séricas promedio y vida media.
- Cada uno de los dominios en la molécula de inmunoglobulina tiene una estructura terciaria característica llamada pliegue de inmunoglobulina. La presencia de un dominio de pliegue de inmunoglobulina identifica asimismo muchas otras proteínas que no son anticuerpo como miembros de la superfamilia de las inmunoglobulinas.
- Dentro del dominio variable amino terminal de cada cadena pesada y ligera se encuentran tres regiones determinantes de complementariedad (CDR). Estas regiones polipeptídicas contribuyen al sitio de unión de antígeno de un anticuerpo y establecen su especificidad.
- Las inmunoglobulinas se expresan de dos formas: anticuerpo secretado que producen células plasmáticas y anticuerpo unido a membrana que se relaciona con heterodímeros Ig-α/Ig-β para formar el receptor de antígeno de la célula B que se encuentra en la superficie de los linfocitos B.
- Las tres funciones efectoras principales de los anticuerpos son 1) opsonización, que promueve la fagocitosis de antígeno por macrófagos y neutrófilos; 2) activación del complemento, que activa una vía que conduce a la generación de un conjunto de proteínas capaces de perforar membranas celulares, y 3) citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo (ADCC), que puede destruir células blanco unidas a anticuerpo.
- A diferencia de los anticuerpos policlonales que proceden de muchas clonas de células B y tienen un conjunto heterogéneo de sitios de unión, un anticuerpo monoclonal deriva de una clona de células B única y es un conjunto homogéneo de sitios de unión.

Bibliografía

Berzofsky, J. A., and J. J. Berkower. 1999. Immunogenicity and antigen structure. In *Fundamental Immunology*, 4th ed., W. E. Paul, ed. Lippincott-Raven, Philadelphia.

Demotz, S., H. M. Grey, E. Appella, and A. Sette. 1989. Characterization of a naturally processed MHC class II-restricted T-cell determinant of hen egg lysozyme. *Nature* **342:**682.

Frazer, J. K., and J. D. Capra. 1999. Immunoglobulins: structure and function. In *Fundamental Immunology*, 4th ed. W. E. Paul, ed. Lippincott-Raven, Philadelphia.

Grey, H. M., A. Sette, and S. Buus. 1989. How T cells see antigen. *Scientific American* **261** (5):56.

Immunology Today: The Immune Receptor Supplement, 2nd ed. 1997. Elsevier Trends Journals, Cambridge, UK (ISSN 1218-1365).

Kindt, T. J., and J. D. Capra. 1984. *The Antibody Enigma*. Plenum Press, New York.

Köhler, G., and Milstein. 1975. Continuous cultures of fused cells secreting antibody of predefined specificity. *Nature* **256:**495.

Kraehenbuhl, J. P., and M. R. Neutra. 1992. Transepithelial transport and mucosal defence II: secretion of IgA. *Trends in Cell Biology* **2:**134.

Landsteiner, K. 1945. *The Specificity of Serological Reactions*. Harvard University Press, Cambridge, MA.

Laver, W. G., G. M. Air, R. G. Webster, and S. J. Smith-Gill. 1990. Epitopes on protein antigens: misconceptions and realities. *Cell* **61:**553.

Reth, M. 1995. The B-cell antigen receptor complex and coreceptor. *Immunology Today* **16:**310.

Stanfield, R. L., and I. A. Wilson. 1995. Protein-peptide interactions. *Current Opinion in Structural Biology* **5:**103.

Tainer, J. A., et al. 1985. The atomic mobility component of protein antigenicity. *Annual Review of Immunology* **3:**501.

Wedemayer, G. J., et al. 1997. Structural insights into the evolution of an antibody combining site. *Science* **276:**1665.

Wentworth, P., and K. Janda. 1998. Catalytic antibodies. *Current Opinion in Chemical Biology* **8:**138.

Wilson, I. A., and R. L. Stanfield. 1994. Antibody-antibody interactions: new structures and new conformational changes. *Current Opinion in Structural Biology* **4:**857

Sitios útiles de la red

http://www.umass.edu/microbio/rasmol/

RasMol es un software gratuito para visualizar estructuras moleculares que puede correrse en PC basadas en Windows, Macintosh o Unix. En él pueden observarse estructuras tridimensionales de muchos tipos de moléculas, incluidos proteínas y ácidos nucleicos.

http://www.expasy.ch/

Excelente y amplio portal del Swiss Institute of Bioinformatics (SIB), que contiene extensa información sobre la estructura de las proteínas. De él pueden obtenerse secuencias y estructuras tridimensionales de proteínas, así como el versátil programa Swiss-PdbViewer, que tiene varias capacidades avanzadas que no se encuentran en RasMol.

http://www.bioinf.org.uk/abs/

El sitio de red Antibodies: Structure and Sequence resume información útil sobre la estructura y secuencia de anticuerpos. Proporciona información general sobre anticuerpos y estructuras cristalinas e incluye enlaces con otras páginas relacionada con anticuerpos.

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/

La Molecular Modeling Database (MMDB) contiene estructuras tridimensionales determinadas mediante cristalografía con rayos X y espectroscopia de NMR. Los datos de la MMDB se obtienen del Protein Data Bank (PDB). El National Center for Biotechnology Information (NCBI) tiene datos estructurales enlazados en forma cruzada con información bibliográfica, bases de datos de secuencias de proteínas y ácido nucleico y la base de datos de taxonomía animal del NCBI. Este último desarrolló un visor de estructuras en tercera dimensión, Cn3D, para la fácil visualización interactiva de estructuras moleculares.

http://www.umass.edu/microbio/chime/pe/protexpl/frntdoor.htm

Protein Explorer es un programa de visualización molecular creado por Eric Martz de la University of Massachusetts, Amherst, con el apoyo de la National Science Foundation para facilitar a estudiantes, maestros y científicos el uso de técnicas de visualización molecular interactivas y dinámicas.

http://imgt.cines.fr

IMGT, la base de datos internacional ImMunoGeneTics creada por Marie-Paule Lefranc, es un sistema de información bien organizado, poderoso y amplio que se especializa en inmunoglobulinas, receptores de células T y moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) de todas las especies de vertebrados.

Preguntas de estudio

PREGUNTA DE ENFOQUE CLÍNICO Dos compañías farmacéuticas producen inmunoglobulina intravenosa (IGIV). La compañía A elabora su producto a partir de fondos comunes de 100 000 donadores obtenidos sólo de la población de Estados Unidos. La compañía B prepara el fármaco de fondos comunes de 60 000 donadores obtenidos en cantidades iguales de Estados Unidos, Europa, Brasil y Japón.

a. ¿Qué producto cabría esperar que tenga el espectro más amplio de reactividades a patógenos? ¿Por qué?
b. Si se supone que los pacientes que reciben el anticuerpo a) nunca saldrán de Estados Unidos o b) viajarán a muchas partes del mundo, ¿cuál de los dos productos elegiría para cada uno de estos grupos de pacientes? Explique sus elecciones.

1. Indique si cada una de las afirmaciones siguientes es verdadera o falsa. Si piensa que una afirmación es falsa, explique por qué.

   a. La mayoría de los antígenos inducen una respuesta de más de una clona.
   b. Por lo general, un antígeno proteínico grande puede combinarse con muchas moléculas de anticuerpo diferentes.
   c. Un hapteno puede estimular la formación de anticuerpo pero no combinarse con moléculas de anticuerpo.
   d. Los genes MCH tienen un papel importante en la determinación del grado de reactividad inmunitaria a un antígeno.
   e. Los epítopos de célula T son casi siempre aminoácidos accesibles que pueden combinarse con el receptor de célula T.
   f. Muchos epítopos de célula B son aminoácidos no secuenciales que quedan próximos entre sí por la conformación terciaria de un antígeno proteínico.
   g. Todos los antígenos también son inmunógenos.
   h. Los anticuerpos pueden unir compuestos hidrófilos o hidrófobos, pero los receptores de célula T sólo pueden unir complejos de péptido y complejo mayor de histocompatibilidad.
   i. Los epítopos de célula B pueden deducirse con gran exactitud a partir de la estructura primaria de una proteína.

2. Para cada par de antígenos que se menciona a continuación, indique cuál es probable que sea más inmunógeno cuando se inyecta a un conejo. Explique la respuesta.

   a. Albúmina sérica bovina (BSA) natural
      BSA desnaturalizada por calor
   b. Lisozima de clara de huevo de gallina (HEL)
      Colágena de gallina
   c. Una proteína con peso molecular de 30 000
      Una proteína con peso molecular de 150 000
   d. BSA en coadyuvante completo de Freund
      BSA en coadyuvante incompleto de Freund

3. Indique cuáles de los siguientes enunciados acerca de los haptenos y portadores son verdaderos.

   a. Los haptenos son moléculas proteínicas grandes, como la albúmina sérica bovina (BSA).
   b. Cuando se inyecta en un animal un complejo de hapteno y portador que contiene múltiples moléculas de hapteno, la mayoría de los anticuerpos inducidos son específicos para el hapteno.
   c. Sólo se requieren portadores si se desea inducir una respuesta mediada por células.
   d. Es necesario inmunizar con un complejo de hapteno y portador a fin de obtener anticuerpos dirigidos contra el hapteno.
   e. Los portadores incluyen moléculas pequeñas como dinitrofenol y ácido penicilénico (derivado de la penicilina).

4. Para cada una de las afirmaciones siguientes, indique si es verdadera sólo para epítopos de células B (B), sólo para epítopos de células T (T) o para ambos tipos de epítopos (BT) dentro de un antígeno grande.

   a. Casi siempre consiste en una secuencia lineal de aminoácidos.
   b. Suelen localizarse en el interior de un antígeno proteínico.
   c. Por lo general se localizan en la superficie de un antígeno proteínico.
   d. Cuando un antígeno proteínico se desnaturaliza por calor pierde su inmunogenicidad.

e. Las moléculas MHC expresadas por un individuo determinan en parte los epítopos inmunodominantes.
f. Casi siempre proceden de proteínas.
g. Pueden existir múltiples epítopos diferentes en el mismo antígeno.
h. Su inmunogenicidad suele depender de la estructura tridimensional del antígeno.
i. La reacción inmunitaria a ellos puede incrementarse por la administración concurrente de coadyuvante completo de Freund.

5. Indique si cada una de las afirmaciones siguientes es verdadera o falsa. Si piensa que es falsa, explique por qué.

a. Un conejo inmunizado con IgG3 humana elabora anticuerpo que reacciona con todas las subclases de IgG en seres humanos.
b. Todas las moléculas de inmunoglobulina en la superficie de una célula B determinada tienen el mismo idiotipo.
c. Todas las moléculas de inmunoglobulina en la superficie de una célula B determinada tienen el mismo isotipo.
d. Todas las moléculas de proteína de mieloma derivadas de una misma clona de mieloma tienen los mismos idiotipo y alotipo.
e. Aunque la IgA es la principal especie de anticuerpo que lleva a cabo la transcitosis, la IgM polimérica, pero no la IgA monomérica, también puede experimentarla.
f. Las regiones hipervariables hacen contacto considerable con el epítopo.
g. La IgG funciona con mayor eficacia que la IgM en la aglutinación bacteriana.
h. Aunque a menudo se prefieren anticuerpos monoclonales para investigación y con fines diagnósticos, tanto los anticuerpos monoclonales como los policlonales pueden ser muy específicos.
i. En condiciones normales, todos los isotipos se encuentran en cada individuo de una especie.
j. La región variable de cadena pesada (V_H) tiene el doble de largo que la región variable de cadena ligera (V_L).

6. El lector es un entusiasta estudiante de inmunología y aísla una proteína X, que tal vez sea un nuevo isotipo de la inmunoglobulina humana.

a. ¿Qué características estructurales debe tener la proteína X para clasificarse como inmunoglobulina?
b. Usted elabora antisueros de conejo para la IgG humana completa y las cadenas humanas κ y γ. Si se supone que la proteína X es en realidad un nuevo isotipo de inmunoglobulina, ¿a cuáles de estos antisueros se uniría? ¿Por qué?
c. Diseñe un procedimiento experimental para elaborar un antisuero específico para la proteína X.

7. Según la teoría de la selección clonal, todas las moléculas de inmunoglobulina en una célula B individual tienen la misma especificidad antigénica. Explique por qué la presencia de IgM e IgD en la misma célula B no viola la inespecificidad implicada por la selección clonal.

8. La IgG, que contiene cadenas pesadas γ, apareció en un momento mucho más temprano de la evolución que la IgM, que contiene cadenas pesadas μ. Describa dos ventajas y dos desventajas que tiene la IgG en comparación con la IgM.

9. Aunque los cinco isotipos de inmunoglobulina comparten muchas características estructurales comunes, las diferencias en sus estructuras afectan sus actividades biológicas.

a. Esquematice una molécula de IgG típica e indique cada una de las partes siguientes: cadenas H, cadenas L, enlaces disulfuro intercadena, enlaces disulfuro intracadena, dominios de bisagra, Fab, Fc y todos los dominios. Indique cuáles son los dominios que participan en la unión de antígeno.
b. ¿Cómo tendría que modificarse el diagrama de la IgG para mostrar una molécula de IgA aislada de la saliva?
c. ¿Cómo tendría que modificarse el diagrama de la IgG para representar IgM sérica?

10. Llene el cuadro adjunto que relaciona las propiedades de las moléculas de IgG y sus diversas partes. Escriba (+) si la molécula o parte de ella muestra la propiedad; (−) si no es así; y (+/−) si sólo la muestra débilmente.

Propiedad	**IgG entera**	**Cadena H**	**Cadena L**	**Fab**	**F(ab′)$_2$**	**Fc**
Unión de antígeno						
Unión bivalente de antígeno						
Unión a receptores Fc						
Complemento fijo en presencia de antígeno						
Dominios V						
Dominios C						

11. Debido a que las moléculas de inmunoglobulina poseen determinantes antigénicos, pueden funcionar por sí mismas como inmunógenas e inducir la formación de anticuerpos. Para cada uno de los casos de inmunización siguientes indique si se formarían anticuerpos antiinmunoglobulina contra determinantes isotípico (IS), alotípico (AL) o idiotípico (ID):

a. Se inyectan a un ratón C57BL/6 anticuerpos anti-DNP producidos en un ratón BALB/c.
b. Se inyectan a un ratón BALB/c anticuerpos monoclonales anti-BGG de otro ratón BALB/c.
c. Se inyectan a un conejo anticuerpos anti-BGG producidos en un ratón BALB/c.
d. Se inyectan a un ratón exogámico anticuerpos anti-DNP producidos en un ratón BALB/c.
e. Los anticuerpos anti-BGG producidos en un ratón BALB/c se inyectan al mismo ratón.

12. Escriba SÍ o NO en el cuadro adjunto para indicar si los antisueros de conejo indicados en la parte superior reaccionan con los componentes de anticuerpo de ratón que se enumeran a la izquierda.

	Cadena γ	**Cadena κ**	**Fragmento Fab de IgG**	**Fragmento Fc de IgG**	**Cadena J**
Cadena γ de ratón					
Cadena κ de ratón					
IgM entera de ratón					
Fragmento Fc de IgM de ratón					

13. La estructura característica de los dominios de inmunoglobulina conocida como pliegue de inmunoglobulina se observa también en numerosas proteínas de membrana que pertenecen a la superfamilia de las inmunoglobulinas.
    a. Describa las características típicas que definen la estructura del dominio del pliegue de inmunoglobulina.
    b. Considere las proteínas que pertenecen a la superfamilia de las inmunoglobulinas. ¿Qué tienen todas estas proteínas en común? Describa dos miembros diferentes de la superfamilia de las Ig que unen antígeno. Identifique cuatro miembros de la superfamilia de las Ig que no unen antígeno.

14. ¿Dónde se localizan las regiones CDR en una molécula de anticuerpo y cuáles son sus funciones?

15. La variación en la secuencia de aminoácidos en cada posición de una cadena polipeptídica puede expresarse por una cantidad denominada *variabilidad*.
    a. ¿Cuáles son los valores más grandes y más pequeños posibles de la variabilidad?
    b. ¿En qué esperaría que difirieran la gráfica de variabilidad de una enzima presente en múltiples especies de mamíferos y la de un grupo de inmunoglobulinas humanas?

16. Una investigadora deseaba obtener un antisuero de conejo específico para IgG de ratón. Inyectó a un conejo IgG murina purificada y obtuvo un antisuero que reaccionó intensamente con IgG de ratón. Sin embargo, para su desaliento, el antisuero también reaccionó con cada uno de los otros isotipos murinos. Explique por qué obtuvo este resultado. ¿Cómo podría hacer que el antisuero de ratón fuera específico para IgG murina?

17. Se fusionan células esplénicas que tienen un genotipo normal para cadenas pesadas (H) y ligeras (L) de inmunoglobulina con tres preparados de células de mieloma que difieren en sus genotipos de inmunoglobulina como sigue: a) H^+, L^+; b) H^+, L^-; c) H^-, L^-. Para cada hibridoma, prediga cuántos sitios de unión de antígeno únicos, compuestos de una cadena H y una L, podrían producirse en teoría, y muestre la estructura de cadena de las posibles moléculas de anticuerpo. Para cada posible molécula de anticuerpo, indique si las cadenas se originarían en el bazo (S) o el compañero de fusión de mieloma (M) (p. ej., H_SL_S/H_mL_m).

18. Para cada isotipo de inmunoglobulina (a-e), elija la o las descripciones que se indica abajo (1-12) que describen ese isotipo. Cada descripción puede utilizarse una vez, más de una vez o ninguna vez; para algunos isotipos puede aplicarse más de una descripción.

    Isotipos

    a. ______ IgA
    b. ______ IgD
    c. ______ IgE
    d. ______ IgG
    e. ______ IgM

    Descripciones

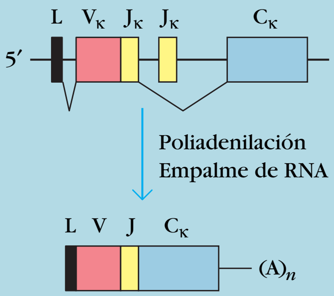
    1) La forma secretada es un pentámero de la unidad básica H_2L_2
    2) Se une a receptores Fc en células cebadas
    3) Las formas multiméricas tienen una cadena J
    4) Se encuentra en la superficie de células B maduras no cebadas
    5) El isotipo más abundante en suero
    6) Principal anticuerpo en secreciones como saliva, lágrimas y leche materna
    7) Se encuentra en la superficie de células B inmaduras
    8) El primer anticuerpo sérico que se produce en una respuesta inmunitaria primaria
    9) Tiene un papel importante en la hipersensibilidad inmediata
    10) Tiene un papel primario en la protección contra patógenos que invaden a través de la mucosa intestinal o respiratoria
    11) Las formas multiméricas pueden contener un componente secretorio
    12) El isotipo menos abundante en suero

19. El lector acaba de producir un anticuerpo monoclonal contra un receptor de superficie celular ligado a tirosincinasa. Cuando el anticuerpo se une al receptor expresado en sus células, usted observa que éstas son estimuladas en lugar de ser inhibidas. Es decir, el anticuerpo no bloquea al receptor sino que da por resultado una mayor señalización por el receptor. Dé una posible explicación de este resultado. ¿Cómo podría modificar el anticuerpo para eliminar la reacción de estimulación, y de este modo determinar si su anticuerpo bloquea la unión de ligando?

20. La IgG se transfiere de la madre al feto en desarrollo, lo cual confiere inmunoprotección contra antígenos a los que la madre se exponga en el primer trimestre. ¿De qué otras maneras una madre da protección inmunitaria a su hijo después del nacimiento?

capítulo 5

Organización y expresión de los genes de inmunoglobulina



Los genes de la cadena ligera κ se reordenan y empalman para generar el mensaje completo.

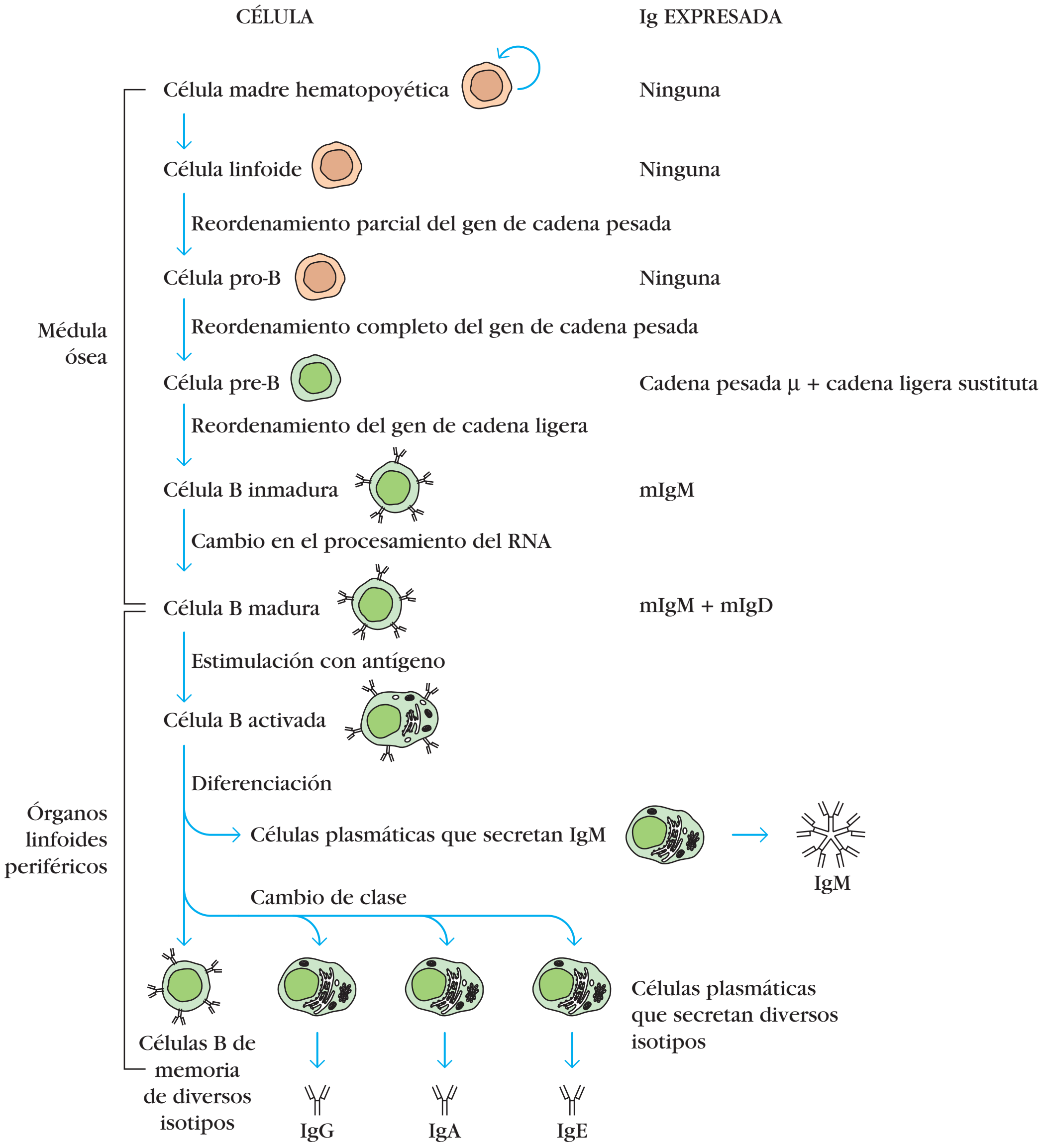
- Diseño de un modelo genético compatible con la estructura de la inmunoglobulina
- Organización multigénica de genes de inmunoglobulina
- Reordenamientos génicos de región variable
- Mecanismo de los reordenamientos de DNA de región variable
- Generación de diversidad de anticuerpos
- Cambio de clase entre genes de la región constante
- Expresión de genes de inmunoglobulina
- Síntesis, ensamblaje y secreción de inmunoglobulinas
- Regulación de la transcripción de genes de inmunoglobulina
- Genes de anticuerpos e ingeniería de anticuerpos

UNA DE LAS CARACTERÍSTICAS MÁS NOTABLES DEL sistema inmunitario de los vertebrados es su capacidad de reaccionar a un conjunto al parecer ilimitado de antígenos extraños. A medida que se acumularon datos sobre la secuencia de la inmunoglobulina (Ig) se encontró que, casi sin excepción, cada molécula de anticuerpo estudiada contenía una secuencia única de aminoácidos en su región variable, pero sólo una de un número limitado de secuencias invariantes en su región constante. La base genética de esta combinación de constancia y enorme variación en una molécula de proteína aislada estriba en la organización de los genes de inmunoglobulina.

En el DNA de la línea germinal, múltiples segmentos génicos codifican porciones de una cadena pesada o ligera de inmunoglobulina aislada. Estos segmentos génicos se encuentran en las células germinales, pero no pueden transcribirse y traducirse en cadenas completas mientras no se reordenen como genes funcionales. Durante la maduración de la célula B en la médula ósea, algunos de estos segmentos génicos son dispuestos de manera aleatoria por un sistema genético dinámico capaz de crear más de 10^6 combinaciones. Procesos ulteriores incrementan la diversidad del repertorio de sitios de unión de anticuerpo a un número muy grande, mayor de 10^8. Durante el desarrollo de la célula B, la maduración de una célula B progenitora avanza por una secuencia ordenada de reordenamientos de los genes que codifican la Ig, junto con modificaciones de los genes que contribuyen a la diversidad del producto final. Hacia el término de este proceso, una célula B madura inmunocompetente contendrá secuencias codificadoras para una región variable de cadena pesada y una región variable de cadena ligera funcionales. Así, una célula B individual surge con su especificidad ya determinada. Después de la estimulación antigénica de una célula B madura en órganos linfoides periféricos, el reordenamiento adicional de segmentos génicos en la región constante puede generar cambios en el isotipo expresado, que producen a su vez cambios en las funciones biológicas efectoras de la molécula de inmunoglobulina sin modificar su especificidad. Por consiguiente, las células B maduras contienen DNA cromosómico que ya no es idéntico al DNA de la línea germinal. Si bien se concibe el DNA genómico como un plano básico genético estable, el linaje de células linfocíticas no conserva una copia intacta de este plano básico. El reordenamiento genómico es una característica esencial de la diferenciación de linfocitos, y no se ha demostrado que ningún otro tipo de célula de los vertebrados lleve a cabo este proceso.

En este capítulo se describe primero la organización detallada de los genes de inmunoglobulina, el proceso de reordenamiento del gen de Ig y los mecanismos por los que el sistema genético dinámico de la inmunoglobulina genera más de 10^8 diferentes especificidades antigénicas. Acto seguido se analizan el mecanismo del cambio de clase, el papel del procesamiento diferencial del RNA en la expresión de genes de inmunoglobulina y la regulación de la transcripción de estos genes. El capítulo

FIGURA 5-1 PARA VISUALIZACIÓN DE CONCEPTOS: Desarrollo de la célula B


CÉLULA
Ig EXPRESADA
Célula madre hematopoyética
Ninguna
Célula linfoide
Ninguna
Reordenamiento parcial del gen de cadena pesada
Célula pro-B
Ninguna
Médula ósea
Reordenamiento completo del gen de cadena pesada
Célula pre-B
Cadena pesada μ + cadena ligera sustituta
Reordenamiento del gen de cadena ligera
Célula B inmadura
mIgM
Cambio en el procesamiento del RNA
Célula B madura
mIgM + mIgD
Estimulación con antígeno
Célula B activada
Diferenciación
Órganos linfoides periféricos
Células plasmáticas que secretan IgM
IgM
Cambio de clase
Células plasmáticas que secretan diversos isotipos
Células B de memoria de diversos isotipos
IgG
IgA
IgE

Los fenómenos que ocurren durante la maduración en la médula ósea no requieren antígeno, pero sí la activación y diferenciación de células B maduras en órganos linfoides periféricos. Los nombres mIgM y mIgD se refieren a inmunoglobulinas relacionadas con membrana. IgG, IgA e IgE son inmunoglobulinas secretadas.

concluye con la aplicación de los conocimientos de la biología molecular de los genes de inmunoglobulina a la ingeniería de moléculas de anticuerpo para aplicaciones terapéuticas y de investigación. En el capítulo 11 se cubre en detalle el proceso completo del desarrollo de las células B desde los primeros reordenamientos génicos en células B progenitoras hasta la diferenciación final en células B de memoria y células plasmáticas que secretan anticuerpo. En la figura 5-1 se delinean las etapas secuenciales del desarrollo de la célula B, muchas de las cuales resultan de reordenamientos críticos.

Diseño de un modelo genético compatible con la estructura de la inmunoglobulina

Los resultados de los estudios de determinación de la secuencia de aminoácidos (secuenciación, para abreviar) de la inmunoglobulina descritos en el capítulo 4 revelaron varias características de la estructura de la inmunoglobulina que resultaron difíciles de conciliar con los modelos genéticos clásicos. Cualquier modelo viable de los genes de inmunoglobulina tenía que tomar en cuenta las siguientes propiedades de los anticuerpos:

- La vasta diversidad de especificidades de anticuerpo
- La presencia en las cadenas pesadas y ligeras de la Ig de una región variable en el extremo amino terminal y una región constante en el extremo carboxilo terminal
- La existencia de isotipos con la misma especificidad antigénica, que resultan de la asociación de una región variable dada con diferentes regiones constantes de cadena pesada

Modelos de línea germinal y de variación somática propuestos para explicar la diversidad de anticuerpos

Durante varias décadas, los inmunólogos trataron de idear un mecanismo genético que explicara la enorme diversidad de estructuras del anticuerpo. Surgieron así dos grupos diferentes de hipótesis. Las **teorías de la línea germinal** sostenían que el genoma, al que contribuían las células germinales, óvulo y espermatozoide, contenía un gran repertorio de genes de inmunoglobulina; por consiguiente, estas teorías no incluían mecanismos genéticos especiales para explicar la diversidad de anticuerpos. Aducían que el inmenso valor del sistema inmunitario para la supervivencia justificaba la asignación de un segmento considerable del genoma a la codificación de anticuerpos. En cambio, las **teorías de la variación somática** sostenían que el genoma poseía una cantidad relativamente pequeña de genes de inmunoglobulina, a partir de los cuales se generaba un gran número de especificidades de anticuerpo en las células somáticas por mutación o recombinación.

A medida que se determinaron las secuencias de aminoácidos de más y más inmunoglobulinas, resultó obvio que debían existir mecanismos no sólo para crear la diversidad de anticuerpos sino también para conservar la constancia. Ya fuera que la diversidad se generara por la línea germinal o por mecanismos somáticos, persistía una paradoja: ¿cómo podría conservarse la estabilidad en la región constante (C) mientras algún tipo de mecanismo diversificador generaba la región variable (V)?

Ni quienes proponían la línea germinal ni los que proclamaban la variación somática podían ofrecer una explicación razonable para esta característica central de la estructura de la inmunoglobulina. Para los seguidores de la línea germinal era difícil hallar un mecanismo evolutivo que explicara la diversidad en la parte variable de los múltiples genes de cadenas pesada y ligera y que al mismo tiempo preservara sin cambio la región constante de cada uno. Para los que se inclinaban por la variación somática era también difícil concebir un mecanismo que pudiera diversificar la región variable de un gen de cadenas pesada o ligera individual en las células somáticas sin permitir la alteración de la secuencia de aminoácidos codificada por la región constante.

Se formuló una tercera característica estructural que debía ser explicada cuando la secuenciación de aminoácidos de la proteína del mieloma humano, la denominada Ti1, reveló que secuencias idénticas de la región variable se relacionaban con las regiones constantes de cadena pesada γ y μ. C. Todd observó un fenómeno similar en conejos, y encontró que un marcador alotípico particular en la región variable de la cadena pesada podría vincularse con las regiones constantes de cadena pesada α, γ y μ. Numerosas pruebas adicionales confirmaron que una secuencia única de la región variable, que definía una especificidad antigénica particular, podía relacionarse con múltiples secuencias de la región constante de la cadena pesada; en otras palabras, pueden expresarse diferentes clases o isotipos de anticuerpo (p. ej., IgG, IgM) con secuencias de región variable idénticas.

Dreyer y Bennett propusieron un revolucionario modelo de dos genes-un polipéptido

En un intento de desarrollar un modelo genético que conciliara los hechos conocidos sobre la estructura de las inmunoglobulinas, W. Dreyer y J. Bennett sugirieron, en su artículo teórico clásico de 1965, que dos genes separados codificaban una misma cadena pesada o ligera de inmunoglobulina, un gen para la región V (región variable) y el otro para la región C (región constante). Señalaron que estos dos genes de alguna manera debían reunirse a nivel del DNA para formar un mensaje continuo que pudiera transcribirse y traducirse a una cadena pesada o ligera de Ig única. En ese tiempo era generalmente aceptado que un gen codificaba un polipéptido, de modo que su propuesta resultó revolucionaria. Más aún, propusieron que en la línea germinal había cientos o miles de genes de región V, en tanto que sólo era necesario que existieran copias únicas de genes de clase y subclase de la región C.

El valor de este tipo de modelo de recombinación (que fusionaba elementos de la línea germinal y teorías de la variación somática) residía en que era capaz de explicar aquellas inmunoglobulinas en las que una región V individual se combinaba con varias regiones C. Al postular un gen de región constante único para cada clase y subclase de inmunoglobulina, el modelo también pudo explicar la conservación de funciones efectoras biológicas necesarias al tiempo que permitía la diversificación evolutiva de genes de la región variable.

Al principio, el apoyo para la hipótesis de Dreyer y Bennett fue indirecto. Estudios pioneros de cinética de hibridación del DNA mediante una sonda radiactiva de DNA de región constante indicaron que la sonda se hibridaba con tan sólo uno o dos genes, lo que confirmaba la predicción del modelo, que indicaba que únicamente existían una o dos copias de cada clase y subclase de la región constante. Sin embargo, la prueba indirecta no fue suficiente para vencer la obstinada resistencia de la comunidad científica sobre la hipótesis de Dreyer y Bennett. La sugerencia de que dos genes codificaban un polipéptido individual contradecía el principio prevaleciente de un gen-un polipéptido y no tenía precedente en ningún sistema biológico conocido.

Como sucede con frecuencia en la ciencia, la comprensión teórica e intelectual de la organización del gen de Ig progresó más que la metodología disponible. Aunque el modelo de Dreyer y Bennett proporcionaba un marco teórico para resolver el dilema entre los datos de la secuencia de Ig y la organización génica, la validación real de su hipótesis tuvo que esperar a que ocurrieran varios adelantos tecnológicos importantes en el campo de la biología molecular.

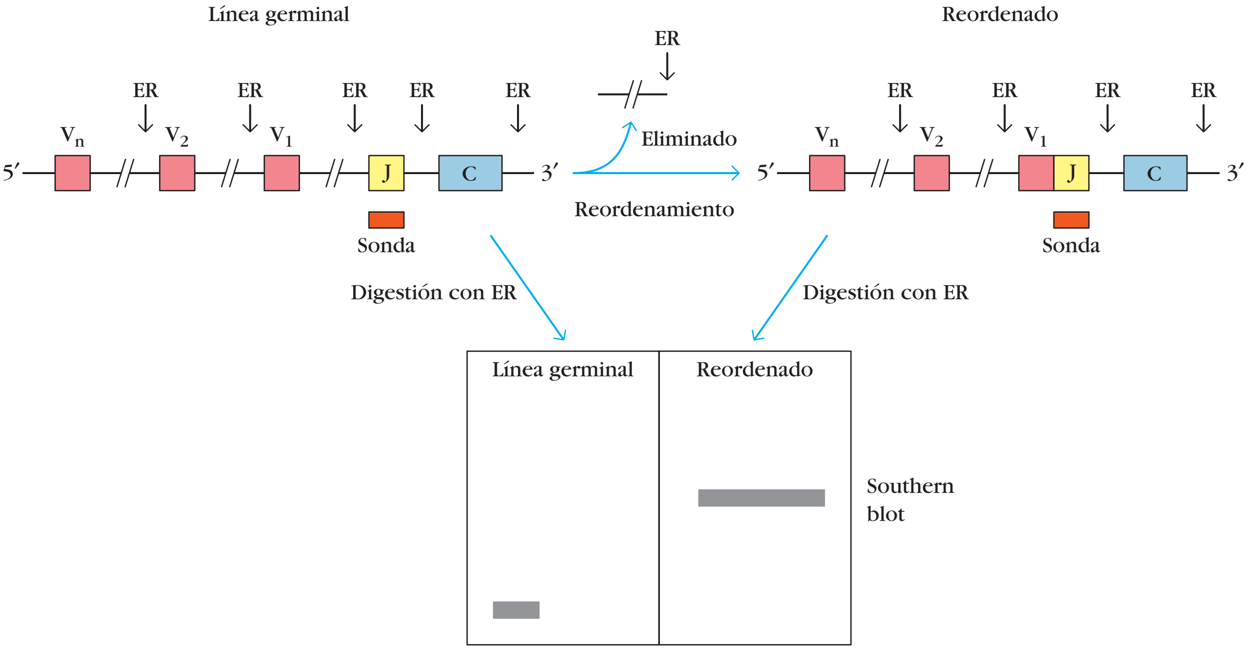


FIGURA 5-2 Bases experimentales para el diagnóstico del reordenamiento en un locus de inmunoglobulina. El número y tamaño de fragmentos de restricción generados por el tratamiento del DNA con una enzima de restricción dependen de la secuencia del DNA. La digestión de DNA reordenado con una enzima de restricción (ER) proporciona un patrón de fragmentos de restricción que difieren de los obtenidos mediante digestión de un locus no reordenado con la misma ER. Los fragmentos suelen analizarse mediante la técnica de Southern blotting. En este ejemplo se utilizó una sonda con un segmento génico J para identificar la digestión de fragmentos con ER que incluye todo este segmento o porciones de él. Como se muestra, el reordenamiento tiene como resultado la eliminación de un segmento de DNA de la línea germinal y la pérdida de los sitios de restricción que incluye. Otra consecuencia es la unión de segmentos génicos, en este caso un segmento V y uno J, que están separados en la línea germinal. Por lo tanto, los fragmentos dependientes de la presencia de este segmento para su generación no existen en el DNA digerido con enzima de restricción del locus reordenado. Más aún, el DNA reordenado origina fragmentos nuevos que no existen en el DNA digerido en la configuración de la línea germinal. Este hecho puede ser útil porque tanto las células B como las no B tienen dos loci de inmunoglobulina. Uno de ellos se reordena y el otro no. Por consiguiente, a menos que un accidente genético ocasione la pérdida del locus de la línea germinal, la digestión del DNA de una clona de células de mieloma o células B normal crea un patrón de restricción que incluye todos los productos digeridos de una línea germinal aunados a cualquier fragmento nuevo que se genere por el cambio en la secuencia de DNA que acompaña al reordenamiento. Obsérvese que sólo se muestra uno de los varios segmentos génicos J que existen.

La bomba de Tonegawa: los genes de la inmunoglobulina se reordenan

En 1976, S. Tonegawa y N. Hozumi encontraron la primera prueba directa indicativa de que genes separados codificaban las regiones V y C de las inmunoglobulinas y que los genes se reordenaban en el curso de la diferenciación de la célula B. Tonegawa y Hozumi seleccionaron DNA de células embrionarias y células de mieloma adultas (células en etapas muy diferentes de desarrollo), y utilizaron varias endonucleasas de restricción para generar fragmentos de DNA. Después separaron estos fragmentos por tamaño y analizaron su capacidad de hibridarse con una sonda de mRNA radiomarcada. Dos fragmentos de restricción separados procedentes del DNA embrionario se hibridaron con el mRNA, en tanto que sólo un fragmento de restricción aislado procedente del DNA del mieloma adulto lo hizo con la misma sonda. Tonegawa y Hozumi sugirieron que, durante la diferenciación de los linfocitos desde la etapa embrionaria hasta la etapa de célula plasmática del todo diferenciada (representada en su sistema por las células de mieloma), los genes V y C experimentan reordenamiento. En el embrión, los genes V y C están separados por un segmento grande de DNA que contiene un sitio de endonucleasa de restricción; durante la diferenciación, los genes V y C se acercan entre sí y se elimina la secuencia intermedia de DNA. Este trabajo cambió el campo de la inmunología, y en 1987, Tonegawa recibió el premio Nobel.

En los experimentos pioneros de Tonegawa y Hozumi se empleaba un procedimiento tedioso y tardado que más adelante se sustituyó por el método mucho más potente del análisis Southern blot. Este método, en la actualidad de uso universal para investigar el reordenamiento de los genes de inmunoglobulina, elimina la necesidad de eluir los fragmentos de restricción de DNA separados de cortes de gel antes del análisis mediante hibridación con una sonda de segmento génico de inmunoglobulina. La figura 5-2 muestra la detección del reordenamiento en el locus de la cadena ligera κ comparando los fragmentos producidos por digestión de DNA de una clona de células de linaje B con el patrón que se obtiene por digestión de células no B (p. ej., semen o células hepáticas). El reordenamiento de un gen V elimina una sección extensa de DNA de la línea germinal y por tanto crea diferencias entre loci de Ig reordenados y no reordenados en la distribución y el número de sitios de restricción. Esto genera diferentes patrones de restricción por loci reordenados y no reordenados. La aplicación extensa de este método demostró que el modelo de dos genes de Dreyer y Bennett —un gen que codifica la región variable y otro la región constante— se aplicaba tanto a los genes de cadena pesada como a los de cadena ligera.

Organización multigénica de genes de inmunoglobulina

A medida que se llevó a cabo la clonación y secuenciación del DNA de cadenas ligeras y pesadas, se descubrió una complejidad aún mayor que la anticipada por Dreyer y Bennett. Familias multigénicas separadas situadas en diferentes cromosomas codifican las cadenas ligeras κ y λ y las cadenas pesadas (cuadro 5-1). En el DNA de la línea germinal, cada una de estas familias multigénicas contiene varias secuencias de codificación llamadas **segmentos génicos**, separadas por regiones que no codifican. Durante la maduración de la célula B estos segmentos se reordenan y se acercan entre sí para formar genes de inmunoglobulina funcionales.

Cada familia multigénica tiene características distintas

Las familias de las cadenas ligeras κ y λ contienen **segmentos génicos V, J** y **C**; los segmentos VJ reordenados codifican la región variable de las cadenas ligeras. La familia de la cadena pesada posee **segmentos génicos V, D, J** y **C**; los segmentos génicos VDJ reordenados codifican la región variable de la cadena pesada. En cada familia de genes los segmentos génicos C codifican las regiones constantes. A cada segmento génico V lo precede en su extremo 5′ un exón pequeño que codifica un **péptido señal o líder (L)** corto, el cual guía la cadena pesada o ligera a través del retículo endoplásmico. El péptido señal se escinde (separa) de las cadenas ligera y pesada nacientes antes del ensamblaje de la molécula de inmunoglobulina terminada. Así, los aminoácidos codificados por esta secuencia líder no aparecen en la molécula de inmunoglobulina terminada.

Familia multigénica de la cadena λ

La primera prueba de que en realidad dos segmentos génicos codificaban la región variable de la cadena ligera se obtuvo cuando Tonegawa clonó el DNA de la línea germinal que codifica la región variable de la cadena ligera λ de ratón y determinó su secuencia de nucleótidos completa. Cuando se comparó la secuencia nucleotídica con la secuencia de aminoácidos conocida de la región variable de la cadena λ se advirtió una discrepancia inusitada. Aunque los primeros 97 aminoácidos de la región variable de la cadena λ correspondieron a la secuencia nucleotídica del codón, los 13 aminoácidos restantes carboxilo terminal de la región variable de la proteína no coincidieron. Resultó que a muchos pares de bases (pb) de distancia, un segmento génico separado de 39 pb llamado J (del inglés *joining*, unión) codificaba los 13 aminoácidos restantes de la región variable de la cadena λ. En consecuencia, un gen de la región variable λ funcional contiene dos segmentos de codificación —un segmento V 5′ y otro J 3′— separados por una secuencia de DNA no codificadora en el DNA de la línea germinal no reordenado.

CUADRO 5-1 Localizaciones cromosómicas de los genes de inmunoglobulina en seres humanos y ratones

	CROMOSOMA	
Gen	**Ser humano**	**Ratón**
Cadena ligera λ	22	16
Cadena ligera κ	2	6
Cadena pesada	14	12

La familia multigénica λ en la línea germinal del ratón contiene dos segmentos génicos funcionales V_{λ}, tres J_{λ} y dos C_{λ} (fig. 5-3a). Además de las versiones funcionales de estos genes, algunas formas son **seudogenes**, genes defectuosos incapaces de codificar proteína; tales genes se indican con la letra griega Ψ. Como hecho interesante, el compañero de la región constante de $J_{\lambda}4$, $C_{\lambda}4$, es un gen por completo funcional. El segmento V_{λ} y los tres segmentos génicos funcionales J_{λ} codifican la región variable de la cadena ligera, y cada uno de los tres segmentos génicos C_{λ} funcionales codifica la región constante de uno de los tres subtipos de cadena λ (λ1, λ2 y λ3). En el ser humano el locus λ es más complejo. Existen 30 segmentos génicos funcionales V_{λ} y cuatro J_{λ}; hay siete segmentos C_{λ}, de los cuales sólo cuatro son funcionales. Además de los segmentos génicos funcionales, el complejo λ humano contiene muchos seudogenes V_{λ} y J_{λ}.

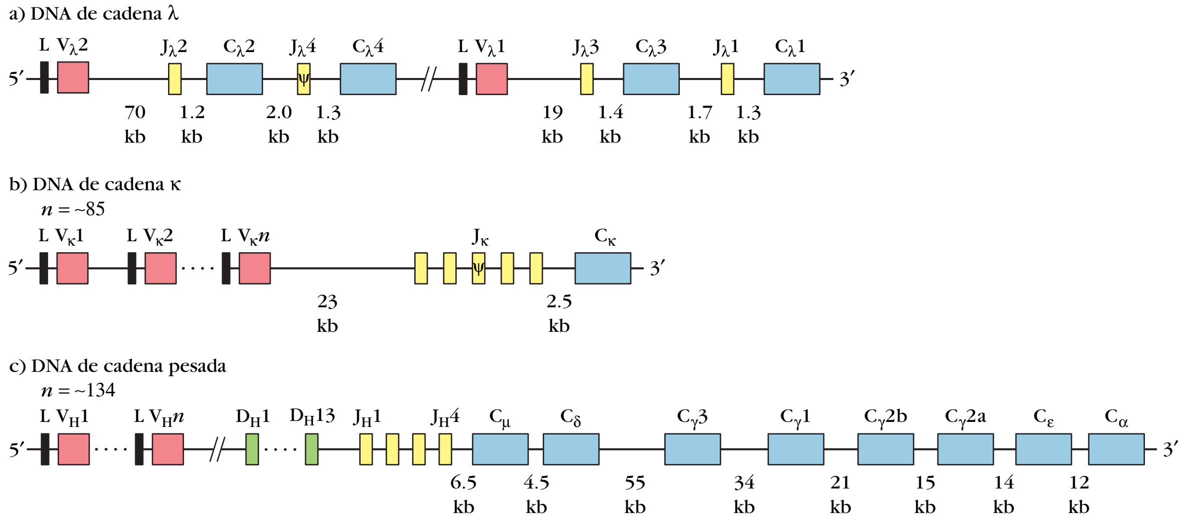
Familia multigénica de la cadena κ

En el ratón, la familia multigénica de la cadena κ contiene alrededor de 75 segmentos génicos V_{κ}, cada uno de ellos con una secuencia líder adyacente a una corta distancia corriente arriba (es decir, en el lado 5′). Existen cinco segmentos génicos J_{κ} (uno de los cuales es un seudogén no funcional) y un segmento génico C_{κ} único (fig. 5-3b). Al igual que en la familia multigénica κ, los segmentos génicos V_{κ} y J_{κ} codifican la región variable de la cadena ligera κ, y el segmento génico C_{κ} codifica la región constante. Debido a que sólo hay un segmento génico C_{κ}, no hay subtipos de cadenas ligeras κ. La comparación de las partes *a* y *b* de la figura 5-3 muestra que el ordenamiento de los segmentos génicos es muy distinto en las familias génicas κ y λ. La familia multigénica de la cadena κ del ser humano, que tiene una organización similar a la del ratón, contiene unos 40 segmentos génicos V_{κ}, cinco J_{κ} y uno C_{κ}.

Familia multigénica de la cadena pesada

La organización de los genes de la cadena pesada de la inmunoglobulina es similar a la de los genes de las cadenas ligeras κ y λ, pero más compleja (fig. 5-3c). Un segmento génico adicional codifica parte de la región variable de la cadena pesada. Leroy Hood y colaboradores propusieron por primera vez la existencia de este segmento génico; esos investigadores compararon la secuencia de aminoácidos de la región variable de la cadena pesada con las secuencias de nucleótidos de V_H y J_H. Se encontró que el segmento génico V_H codifica los aminoácidos 1 a 94 y el segmento génico J_H los aminoácidos 98 a 113; empero, ninguno

FIGURA 5-3 PARA VISUALIZACIÓN DE CONCEPTOS: Organización de los segmentos génicos de la línea germinal de la inmunoglobulina en el ratón: a) cadena ligera λ, b) cadena ligera κ y c) cadena pesada



Los segmentos génicos V, J y C codifican las cadenas ligeras λ y κ y los segmentos génicos V, D, J y C la cadena pesada. Abajo del diagrama de cada cadena se muestran las distancias en kilobases (kb) que separan los diversos segmentos génicos en el DNA de la línea germinal del ratón.

de estos segmentos génicos llevaba información para codificar los aminoácidos 95 a 97. Cuando se determinó la secuencia de nucleótidos para un DNA de mieloma reordenado y se comparó con la secuencia de DNA de la línea germinal, se reconoció una secuencia de nucleótidos adicional entre los segmentos génicos V_H y J_H. Esta secuencia de nucleótidos correspondió a los aminoácidos 95 a 97 de la cadena pesada.

A partir de estos resultados, Hood y colaboradores propusieron que para codificar la región variable completa de las cadenas pesadas, un tercer segmento génico de la línea germinal debe unirse con los segmentos génicos V_H y J_H. Este segmento génico, que codifica aminoácidos dentro de la tercera región determinante de complementariedad (CDR3), se designó D por *diversidad*, en virtud de su contribución a la generación de la diversidad de anticuerpos. Tonegawa y colaboradores localizaron segmentos génicos D dentro del DNA de la línea germinal del ratón con una sonda de cDNA complementaria a la región D, que se hibridó con una extensión del DNA situada entre los segmentos génicos V_H y J_H.

Mediante secuenciación directa del DNA se demostró que la familia multigénica de cadena pesada en el cromosoma humano 14 contiene 39 segmentos génicos V_H localizados corriente arriba de un grupo de 23 segmentos génicos D_H funcionales. Tal y como sucede con los genes de cadena ligera, a cada segmento génico V_H lo precede una secuencia líder a una distancia corta corriente arriba. Corriente abajo de los segmentos génicos D_H se encuentran seis segmentos génicos funcionales J_H seguidos por una serie de segmentos génicos C_H. Cada segmento génico C_H codifica la región constante de un isotipo de cadena pesada de inmunoglobulina. Los segmentos génicos C_H consisten en exones de codificación e intrones que no codifican. Cada exón codifica un dominio separado de la región constante de la cadena pesada. En el ratón se encuentra una organización similar del gen de cadena pesada.

La conservación de funciones biológicas efectoras importantes de la molécula de anticuerpo se debe al número limitado de genes de región constante de la cadena pesada. En el ser humano y los ratones, los segmentos génicos C_H están dispuestos de modo secuencial en el orden C_μ, C_δ, C_γ, C_ϵ, C_α (fig. 5-3c). Este ordenamiento secuencial no es fortuito: suele relacionarse con la expresión secuencial de las clases de inmunoglobulina en el curso del desarrollo de la célula B y la respuesta inicial de IgM de la célula B a su primer encuentro con un antígeno.

Reordenamientos génicos de región variable

En las secciones previas se demostró que los genes funcionales que codifican las cadenas ligeras y pesadas de inmunoglobulina se ensamblan mediante fenómenos de recombinación a nivel del DNA. Estos fenómenos, y los acontecimientos paralelos que incluyen los genes del receptor de célula T, son los únicos reordenamientos de DNA específicos de sitio conocidos en vertebrados. Los reordenamientos génicos de la región variable ocurren en una secuencia ordenada durante la maduración de la célula B en la médula ósea. Primero se reordenan los genes de la región variable de la cadena pesada y luego los genes de la región variable de la cadena ligera. Al final de este proceso, cada célula B contiene una única secuencia funcional de DNA de región variable para su cadena pesada y otra para su cadena ligera.

El proceso de reordenamiento del gen de la región variable produce células B maduras inmunocompetentes; cada una de estas células tiene la función de producir anticuerpo con un sitio de unión codificado por la secuencia particular de sus genes V reordenados. Como se describe más adelante en este capítulo, los reordenamientos de los genes de la región constante de la cadena pesada (un proceso llamado cambio o conmutación de clase) inducen más cambios en la clase de inmunoglobulina (isotipo) expresada por una célula B, pero estos cambios no afectan la especificidad antigénica de las células.

Las etapas del reordenamiento del gen de región variable tienen una secuencia ordenada, pero para los fines de esta exposición pueden considerarse fenómenos aleatorios cuyo resultado es la determinación al azar de la especificidad de la célula B. En esta sección se describen el orden, el mecanismo y las consecuencias de estos reordenamientos.

El DNA de la cadena ligera experimenta reordenamientos VJ

La expresión de las cadenas ligeras κ y λ requiere el reordenamiento de los segmentos génicos V y J de la región variable. En el ser humano, cualesquiera de los genes V_λ funcionales se combina con cualesquiera de las cuatro combinaciones J_λ-C_λ funcionales. En el ratón, los acontecimientos son un poco más complicados. El reordenamiento de DNA puede unir el segmento génico $V_\lambda 1$ con el $J_\lambda 1$ o el $J_\lambda 3$, o bien el segmento génico $V_\lambda 2$ puede unirse con el segmento génico $J_\lambda 2$. En el DNA de la cadena ligera λ del ser humano o el ratón, cualesquiera de los segmentos génicos V_κ puede unirse con cualesquiera de los segmentos génicos J_λ funcionales.

Los genes κ y λ reordenados contienen las regiones siguientes en orden desde el extremo 5′ al 3′: un exón líder (L) corto, una secuencia no codificadora (intrón), un segmento génico VJ unido, un segundo intrón y la región constante. Corriente arriba de cada segmento líder está una secuencia promotora. A la secuencia de la cadena ligera reordenada la transcribe la polimerasa de RNA desde el exón L a través del segmento C hasta la señal de detención (alto o *stop*), lo que da por resultado un transcrito primario de RNA de cadena ligera (fig. 5-4). Los intrones en el transcrito primario son eliminados por enzimas de procesamiento del RNA, y los RNA mensajeros de cadena ligera resultantes salen a continuación del núcleo. El mRNA de cadena ligera se une a ribosomas y se traduce en la proteína

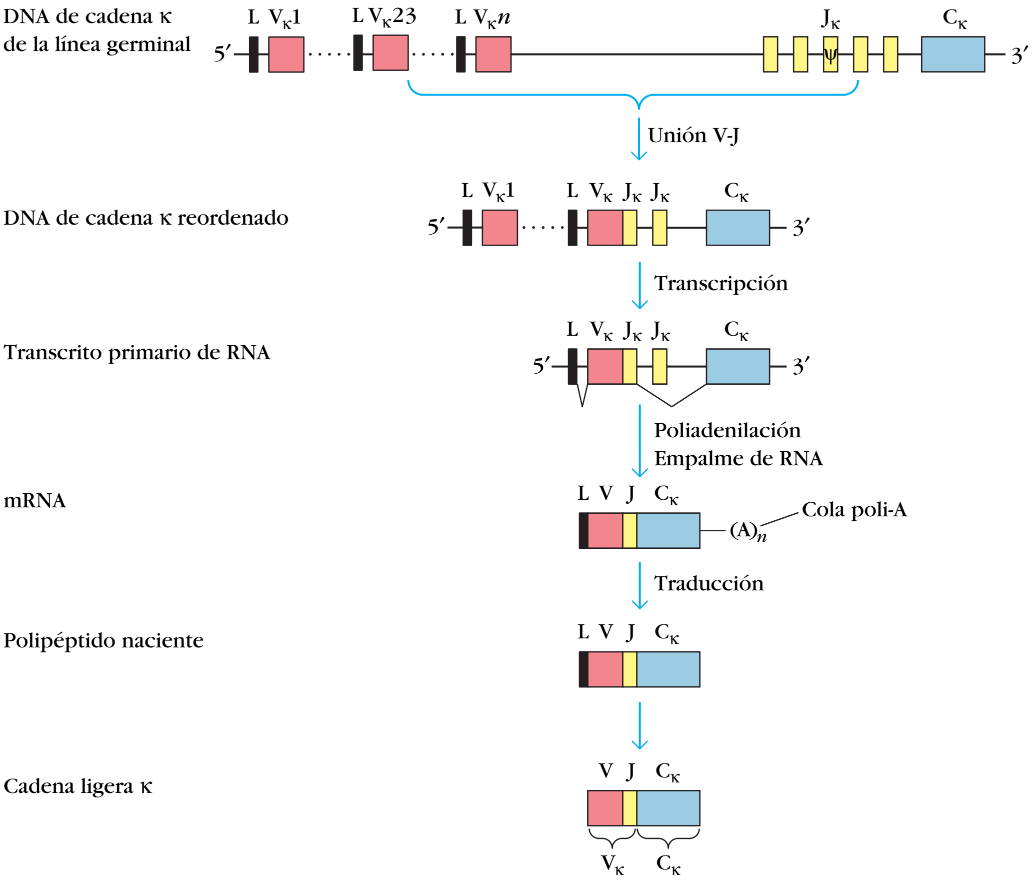


FIGURA 5-4 Reordenamiento génico de la cadena ligera κ y fenómenos del procesamiento del RNA necesarios para generar una proteína de cadena ligera κ. En este ejemplo, el reordenamiento une $V_\kappa 23$ y $J_\kappa 4$.

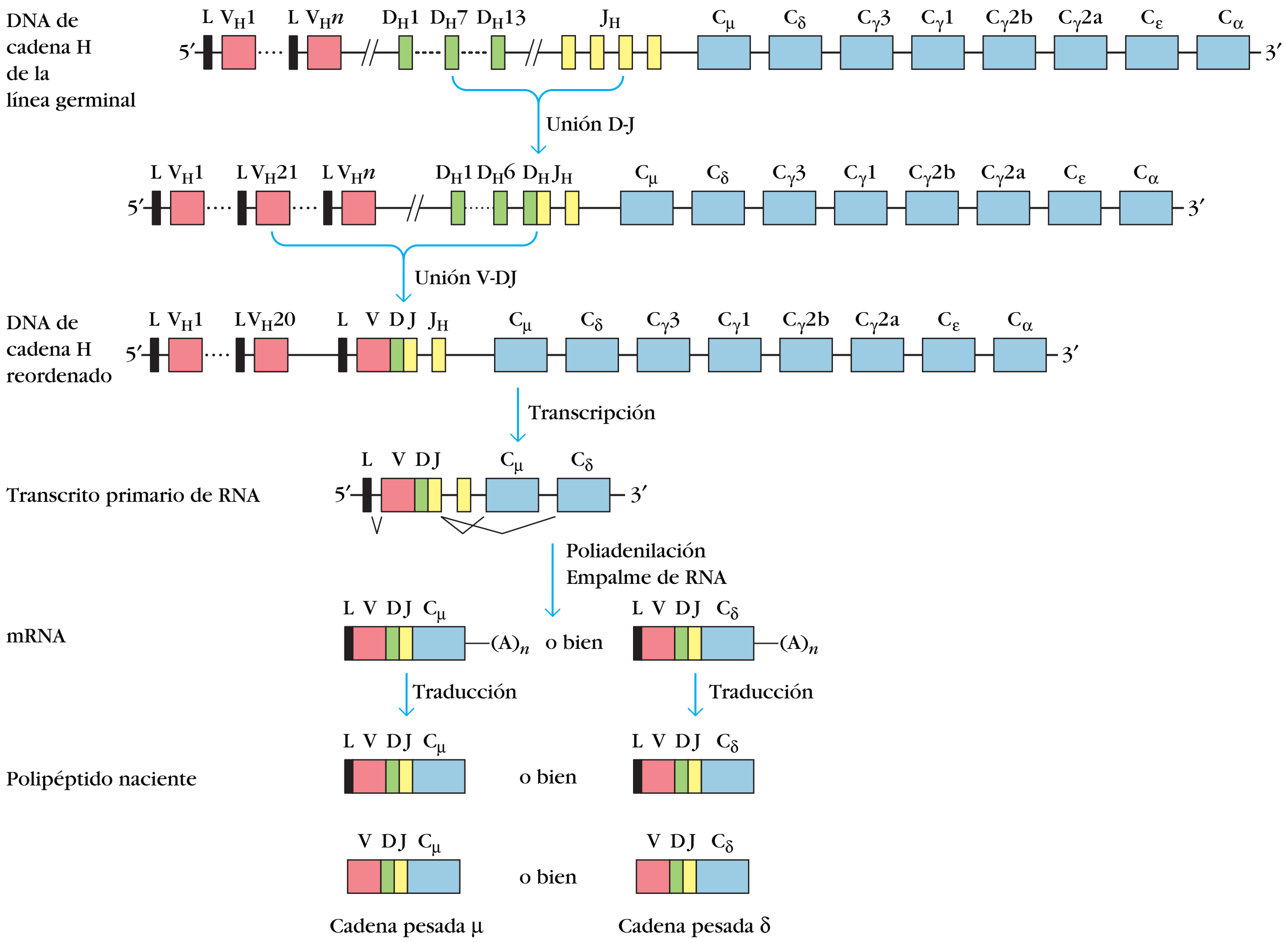

DNA de cadena H de la línea germinal
L V$_H$1
L V$_H$n
D$_H$1 D$_H$7 D$_H$13
J$_H$
Cμ Cδ Cγ3 Cγ1 Cγ2b Cγ2a Cε Cα
5′
3′
Unión D-J
L V$_H$1 L V$_H$21 L V$_H$n
D$_H$1 D$_H$6 D$_H$J$_H$
Unión V-DJ
DNA de cadena H reordenado
L V$_H$1 LV$_H$20 L V DJ J$_H$
Transcripción
Transcrito primario de RNA
L V DJ Cμ Cδ
Poliadenilación
Empalme de RNA
mRNA
L V DJ Cμ
(A)$_n$
o bien
L V DJ Cδ
Traducción
Traducción
Polipéptido naciente
o bien
V DJ Cμ
V DJ Cδ
o bien
Cadena pesada μ
Cadena pesada δ

FIGURA 5-5 Reordenamiento del gen de cadena pesada y fenómenos de procesamiento del RNA necesarios para generar las proteínas de las cadenas pesadas μ o δ terminadas. Se requieren dos uniones de DNA para generar un gen de cadena pesada funcional: una unión D_H con J_H y una unión de V_H con D_HJ_H. En este ejemplo están unidos V_H21, D_H7 y J_H3. Aunque la expresión de genes de cadena pesada funcionales suele ser similar a la expresión de genes de cadena ligera, incluye un procesamiento diferencial del RNA que crea varios productos diferentes, incluidas las cadenas pesadas μ o δ. Cada gen C se dibuja como una secuencia de codificación única; en realidad, cada uno está organizado como una serie de exones e intrones.

de cadena ligera. La secuencia líder en el extremo amino terminal dirige la cadena polipeptídica creciente hacia la luz del retículo endoplásmico rugoso y en seguida se escinde, de modo que no existe en el producto proteínico de cadena ligera terminado.

El DNA de cadena pesada experimenta reordenamientos VDJ

La generación de un gen de cadena pesada de inmunoglobulina funcional requiere dos fenómenos de reordenamiento separados dentro de la región variable. Como se ilustra en la figura 5-5, primero un segmento génico D_H se une a un segmento J_H; a continuación, el segmento D_HJ_H resultante se une a un segmento V_H para crear una unidad $V_HD_HJ_H$ que codifica la totalidad de la región variable. En el DNA de cadena pesada, el reordenamiento de la región variable produce un gen reordenado que consta de las siguientes secuencias, a partir del extremo 5′: un exón L corto, un intrón, un segmento VDJ unido, otro intrón y una serie de segmentos génicos C. Tal y como se observa con los genes de cadena ligera, a una distancia corta corriente arriba de cada secuencia líder de la cadena pesada se halla una secuencia promotora.

Una vez que termina el reordenamiento del gen de cadena pesada, la polimerasa de RNA puede unirse a la secuencia promotora y transcribir la totalidad del gen de cadena pesada, incluidos los intrones. Al inicio se transcriben los segmentos génicos C_μ y C_δ. La poliadenilación diferencial y el empalme de RNA eliminan los intrones y procesa el transcrito primario para generar mRNA, incluyendo el transcrito C_μ o el C_δ. A continuación se traducen estos dos mRNA y se escinde el péptido líder del polipéptido naciente que resulta, lo que crea cadenas μ y δ terminadas. La producción de dos diferentes mRNA de cadena pesada permite que la célula B madura, inmunocompetente, exprese IgM e IgD con idéntica especificidad de antígeno en su superficie.

Mecanismo de los reordenamientos de DNA de región variable

Una vez expuestos los resultados de los reordenamientos de la región variable, se examina ahora con detalle el modo en que sucede este proceso durante la maduración de las células B.

Secuencias señal dirigen la recombinación

El descubrimiento de dos secuencias relacionadas de manera estrecha conservadas en el DNA de la línea germinal de la región variable inició el camino para comprender de modo más amplio el mecanismo de los reordenamientos génicos. Estudios de secuenciación del DNA revelaron la presencia de **secuencias señal de recombinación** (**RSS**, del inglés *recombination signal sequences*) únicas, que flanquean cada segmento génico V, D y J de la línea germinal. Una RSS se ubica en el lado 3′ de cada segmento génico V, en el lado 5′ de cada segmento génico J y a ambos lados de cada segmento génico D. Estas secuencias funcionan como señales para el proceso de recombinación que reordena los genes. Cada RSS contiene un heptámero palindrómico conservado y una secuencia nonámera rica en AT conservada, separada por una secuencia intermedia de 12 a 23 pares de bases (pb) (fig. 5-6a). Las secuencias intermedias de 12 y 23 pb corresponden, respectivamente, a uno y dos giros de la hélice de DNA; por ello las secuencias se denominan **secuencias señal de recombinación de un giro** y **secuencias señal de dos giros**. La secuencia señal V_κ tiene un espaciador de un giro, y la secuencia señal J_κ, uno de dos giros. En el DNA de la cadena ligera λ este orden se invierte; es decir, la secuencia señal V_λ tiene un espaciador de dos giros y la secuencia de J_λ uno de un giro. En el DNA de cadena pesada, las secuencias señal de los segmentos génicos V_H y J_H tienen espaciadores de dos giros y las señales a cada lado del gen D_H poseen espaciadores de un giro (fig. 5-6b). Las secuencias señal que tienen un espaciador de un giro sólo pueden unirse a secuencias que poseen un espaciador de dos giros (la llamada regla de unión un giro-dos giros). Esta regla de unión asegura, por ejemplo, que un segmento V_L sólo se una a un segmento J_L y no a otro segmento V_L; asimismo, garantiza que los segmentos V_H, D_H y J_H se unan en un orden apropiado y que segmentos del mismo tipo no se unan entre sí.

Los segmentos génicos se unen mediante recombinasas

La recombinación V(D)J, que se lleva a cabo en las uniones entre RSS y secuencias de codificación, son catalizadas por enzimas que se denominan en conjunto **recombinasa V(D)J**. La identificación de las enzimas que catalizan la recombinación de los segmentos génicos V, D y J se inició a fines de la década de 1980 y aún se encuentra en curso. En 1990 David Schatz, Marjorie Oettinger y David Baltimore publicaron por primera vez la identificación de dos **genes activadores de la recombinación**, designados ***RAG-1*** y ***RAG-2***, cuyas proteínas codificadas actúan de forma sinérgica y son necesarias para mediar la unión V(D)J. Las proteínas RAG-1 y RAG-2 son los únicos productos génicos específicos linfoides que se ha demostrado que participan en el reordenamiento V(D)J.

La recombinación de segmentos génicos de la región variable consiste en las etapas siguientes, catalizadas por un sistema de enzimas recombinasa (fig. 5-7):

1. Reconocimiento de secuencias señal de recombinación (RSS) por enzimas recombinasa, seguida por sinapsis en la que se colocan en proximidad dos secuencias señal y las secuencias de codificación adyacentes (segmentos génicos).
2. Escisión de una cadena de DNA por RAG-1 y RAG-2 en las uniones de las secuencias señal y las secuencias de codificación.
3. Una reacción catalizada por RAG-1 y RAG-2 en la que el grupo OH 3′ libre en la cadena de DNA cortada ataca el enlace fosfodiéster que une la cadena opuesta a la secuencia señal, lo que produce de manera simultánea una estructura en horquilla en el extremo cortado de la secuencia de codificación y una rotura a ras de la doble cadena fosforilada 5′ en la secuencia señal.

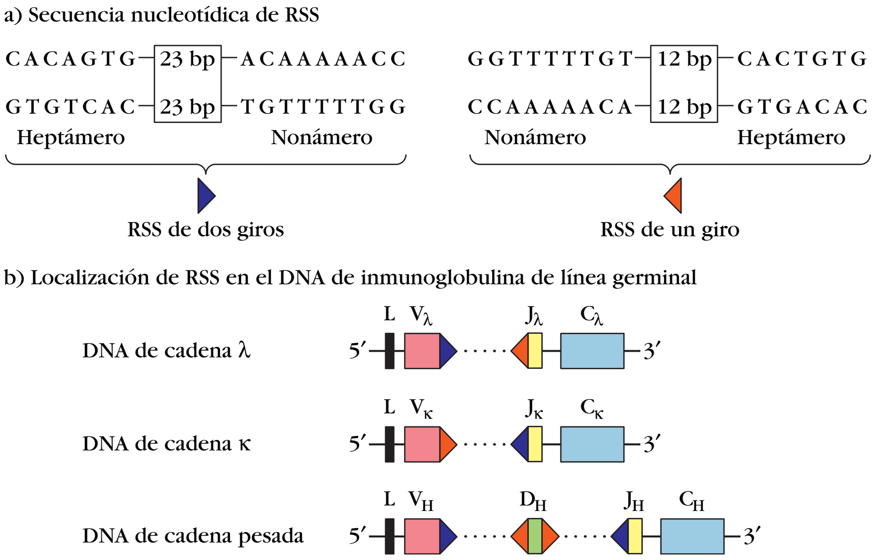


FIGURA 5-6 Dos secuencias conservadas en el DNA que codifica las cadenas ligera y pesada funcionan como secuencias señal de recombinación (RSS). a) Ambas secuencias señal consisten en un heptámero palindrómico conservado y un nonámero conservado rico en AT, ambos separados por espaciadores no conservados de 12 o 23 pares de bases. b) Los dos tipos de RSS —designados como RSS de un giro y RSS de dos giros— tienen localizaciones características dentro del DNA de la línea germinal que codifica las cadenas λ y κ y cadenas pesadas. Durante el reordenamiento del DNA, los segmentos génicos adyacentes a la RSS de un giro sólo pueden unirse con segmentos adyacentes a la RSS de dos giros.

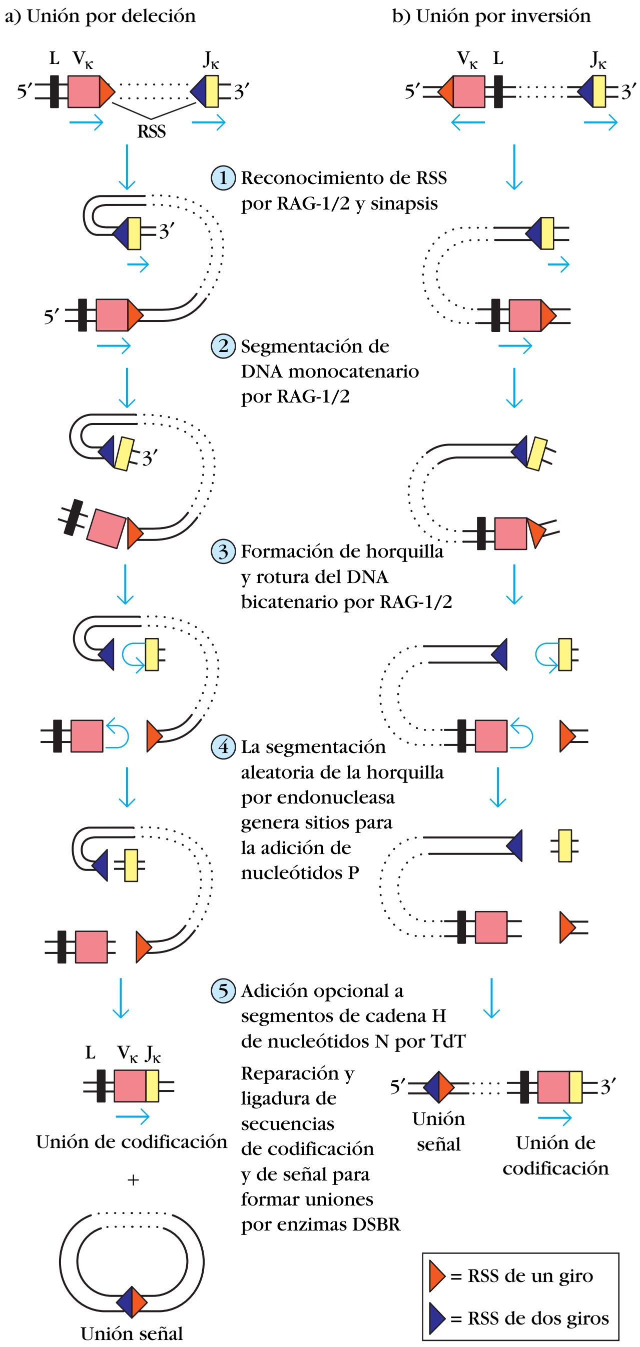

a) Unión por deleción
b) Unión por inversión
L V_κ
J_κ
5′
3′
RSS
V_κ L
J_κ
5′
3′
① Reconocimiento de RSS por RAG-1/2 y sinapsis
3′
5′
② Segmentación de DNA monocatenario por RAG-1/2
3′
③ Formación de horquilla y rotura del DNA bicatenario por RAG-1/2
④ La segmentación aleatoria de la horquilla por endonucleasa genera sitios para la adición de nucleótidos P
⑤ Adición opcional a segmentos de cadena H de nucleótidos N por TdT
L V_κ J_κ
Unión de codificación
+
Unión señal
Reparación y ligadura de secuencias de codificación y de señal para formar uniones por enzimas DSBR
5′
3′
Unión señal
Unión de codificación
= RSS de un giro
= RSS de dos giros

FIGURA 5-7 El modelo que muestra el proceso general de recombinación de los segmentos génicos de inmunoglobulina se ilustra con V_κ y J_κ. a) La unión por eliminación (delecional) ocurre cuando los segmentos génicos por unirse poseen la misma orientación transcripcional (indicada por flechas azules horizontales). Este proceso proporciona dos productos: una unidad VJ reordenada que incluye la unión codificadora y un producto de escisión circular que se integra con las secuencias señal de recombinación (RSS), la unión señal y el DNA intermedio. b) Ocurre la unión por inversión cuando los segmentos génicos tienen orientaciones transcripcionales opuestas. En este caso se retienen las RSS, la unión señal y el DNA intermedio y se invierte la orientación de uno de los segmentos unidos. En ambos tipos de recombinación pueden eliminarse o agregarse unos cuantos nucleótidos en los extremos cortados de las secuencias de codificación antes que se unan de nueva cuenta.

4. Corte de la horquilla con objeto de generar sitios para la adición de **nucleótidos de región P**, seguido del recorte de algunos cuantos nucleótidos de la secuencia de codificación por una endonucleasa de cadena única.
5. Adición hasta de 15 nucleótidos, llamados **nucleótidos de región N**, en los extremos cortados de las secuencias de codificación V, D y J de la cadena pesada por la enzima transferasa de desoxinucleotidilo terminal.
6. Reparación y ligadura para unir secuencias de codificación y para enlazar las secuencias señal, catalizadas por enzimas reparadoras de roturas de doble cadena normal (DSBR).

La recombinación tiene como consecuencia la formación de una **unión codificadora** (o de codificación), situada entre las secuencias de codificación, y una **unión señal**, entre las secuencias señal de recombinación (RSS). La orientación transcripcional de los segmentos génicos por unir determina el destino de la unión señal y el DNA intermedio. Cuando los dos segmentos génicos se encuentran en la misma orientación transcripcional, la unión da lugar a la eliminación de la unión señal y el DNA intermedio como un producto de escisión circular (fig. 5-8). Con menos frecuencia, los dos segmentos génicos tienen orientaciones opuestas. En este caso, se observa la unión por inversión del DNA, cuyo efecto es la retención tanto de la unión codificadora como de la unión señal (y el DNA intermedio) en el cromosoma. En el locus κ humano, alrededor de la mitad de los segmentos génicos V_κ están invertidos con respecto a J_κ y, por consiguiente, su unión ocurre por inversión.

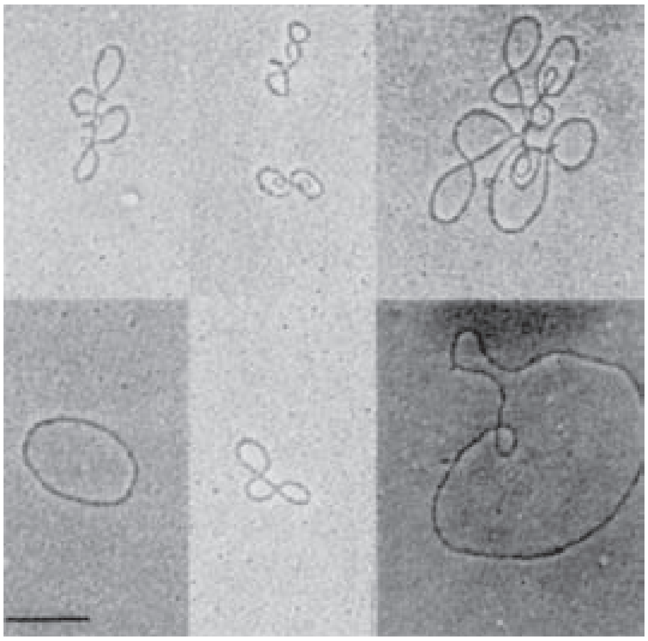


FIGURA 5-8 DNA circular aislado de timocitos en el que se reordenó el DNA que codifica las cadenas del receptor de célula T (TCR) en un proceso parecido al que ocurre en los genes de inmunoglobulina. El aislamiento de este producto de escisión circular es una prueba directa del mecanismo de unión por eliminación que se muestra en la figura 5-7. *[Tomada de Okazaki K, et al., 1987,* Cell ***49****:477.]*

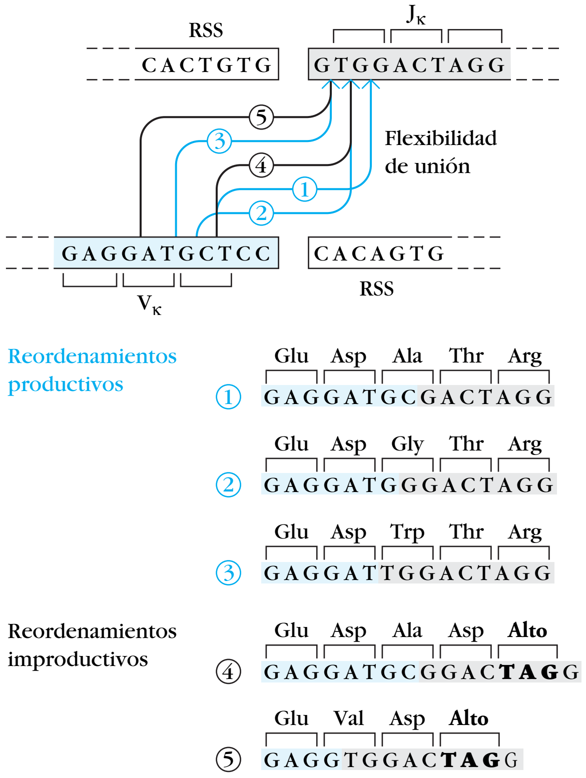

RSS
CACTGTG
Jκ
GTGGACTAGG
⑤
③
④
①
②
Flexibilidad de unión
GAGGATGCTCC
CACAGTG
RSS
Vκ
Reordenamientos productivos
Glu Asp Ala Thr Arg
① GAGGATGCGACTAGG
Glu Asp Gly Thr Arg
② GAGGATGGGACTAGG
Glu Asp Trp Thr Arg
③ GAGGATTGGACTAGG
Reordenamientos improductivos
Glu Asp Ala Asp **Alto**
④ GAGGATGCGGAC**TAG**G
Glu Val Asp **Alto**
⑤ GAGGTGGAC**TAG**G

FIGURA 5-9 La flexibilidad de unión en la unión de los segmentos génicos de inmunoglobulina se ilustra con V_κ y J_κ. En la unión en fase (flechas 1, 2 y 3) se genera un reordenamiento productivo, que puede traducirse en una proteína. La unión fuera de fase (flechas 4 y 5) conduce a un reordenamiento improductivo que contiene codones de detención y no se traduce en una proteína.

Los reordenamientos del gen de inmunoglobulina (Ig) pueden ser productivos o improductivos

Una de las características notables de la recombinación de segmentos génicos es la diversidad de las uniones codificadoras que se forman entre dos segmentos génicos cualesquiera. Aunque las roturas del DNA de doble cadena que inician los reordenamientos V(D)J se introducen de manera precisa en las uniones de secuencias señal y secuencias de codificación, la unión ulterior de estas últimas no es precisa. La diversidad de enlace en las uniones de codificación VJ y VDJ se generan por varios mecanismos: variación en el corte de la horquilla para generar nucleótidos P, diferencias en el recorte de las secuencias de codificación, variación en la adición del nucleótido N y flexibilidad en la unión de las secuencias de codificación. La introducción de aleatoriedad en el proceso de unión ayuda a generar la diversidad de anticuerpos, lo que contribuye a la hipervariabilidad del sitio de unión de antígeno. (Este fenómeno se comenta con mayor detalle más adelante, en la sección sobre generación de la diversidad de anticuerpos.)

Otras consecuencias de la unión imprecisa es que los segmentos génicos pueden unirse fuera de fase, de tal manera que no se preserva el marco de lectura de tripletes para la traducción. En este **reordenamiento improductivo** es probable que la unidad VJ o VDJ resultante contenga múltiples codones de detención, que interrumpen la traducción (fig. 5-9). Cuando se unen en fase segmentos génicos, se conserva el marco de lectura. En este **reordenamiento productivo**, la unidad VJ o VDJ resultante puede traducirse en su totalidad y producir un anticuerpo completo.

En reordenamientos improductivos de un alelo, una célula B puede ser capaz aún de reordenar el otro alelo de manera productiva. Si no se producen un gen de cadena pesada y uno de cadena ligera reordenados en fase, la célula B muere por apoptosis. Se estima que sólo uno de cada tres intentos de las uniones V_L-J_L y V_H-$D_H J_H$ es productivo. Como resultado, progresan hacia la madurez menos de 1/9 (11%) de las células pre-B en etapa temprana en la médula ósea y salen de ella como células B inmunocompetentes maduras.

La exclusión alélica asegura la especificidad antigénica única

Al igual que todas las células somáticas, las células B son diploides y contienen cromosomas maternos y paternos. Aunque una célula B es diploide, expresa los genes de cadena pesada y ligera reordenados sólo de un cromosoma. El proceso por el cual se lleva a cabo lo anterior, llamado **exclusión alélica**, asegura que las células B funcionales nunca contengan más de una unidad $V_H D_H J_H$ y una $V_L J_L$ (fig. 5-10). Por supuesto, esto es esencial para la especificidad antigénica de la célula B, ya que la expresión de

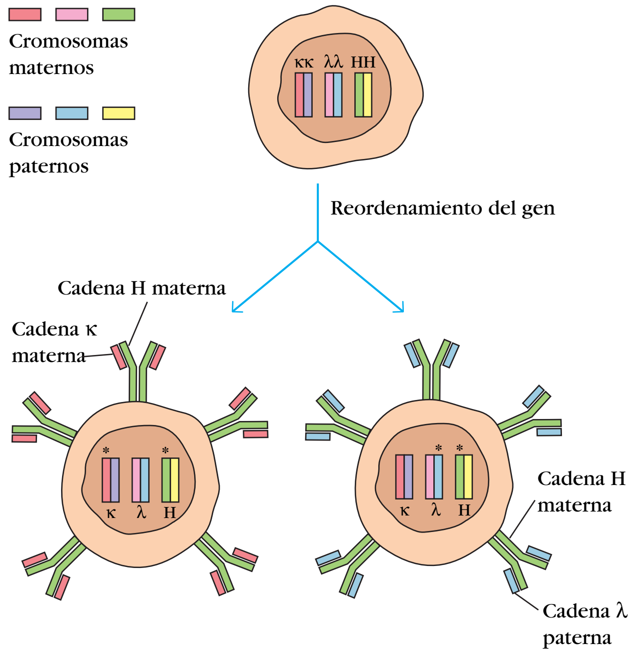

Cromosomas maternos
Cromosomas paternos
κκ λλ HH
Reordenamiento del gen
Cadena H materna
Cadena κ materna
* *
κ λ H
* *
κ λ H
Cadena H materna
Cadena λ paterna

FIGURA 5-10 Debido a la exclusión alélica, sólo se expresan los genes de cadenas pesada y ligera de la inmunoglobulina de un cromosoma parental por célula. Este proceso asegura que las células B tengan una especificidad antigénica única. El alelo seleccionado para reordenamiento se elige de manera aleatoria. Por consiguiente, la inmunoglobulina expresada puede contener una cadena materna y una paterna, o bien derivar ambas cadenas de un solo progenitor. Únicamente las células B y T muestran exclusión alélica. Los asteriscos (*) indican los alelos expresados.

ambos alelos tornaría la célula B en multiespecífica. El fenómeno de exclusión alélica sugiere que una vez que ocurren un reordenamiento productivo V_H-D_H-J_H y uno V_L-J_L se apaga la maquinaria de recombinación, de manera que no se expresan los genes de cadenas pesada y ligera en los cromosomas homólogos.

G. D. Yancopoulos y F. W. Alt propusieron un modelo para explicar la exclusión alélica (fig. 5-11). Estos investigadores sugirieron que una vez que se logra un reordenamiento productivo, su proteína codificada se expresa y la presencia de esta proteína actúa como una señal para evitar un reordenamiento génico adicional. Según este modelo, la presencia de cadenas pesadas μ indica a la célula B en maduración que suspenda el reordenamiento del otro alelo de cadena pesada y que inicie el reordenamiento de los genes de cadena ligera κ. Si ocurre un reordenamiento κ productivo, se introducen cadenas ligeras κ y se parean con cadenas pesadas μ para constituir una molécula de anticuerpo completa. La presencia de este anticuerpo suprime entonces cualquier reordenamiento ulterior de cadena ligera. Si el reordenamiento κ es improductivo para ambos alelos κ, se inicia el reordenamiento de los genes de cadena λ. Si ninguno de los alelos λ se reordena de manera productiva, tal vez la célula B deje de madurar y muera pronto por apoptosis.

Dos estudios con ratones transgénicos apoyan la hipótesis según la cual los productos proteínicos codificados por genes de cadenas pesada y ligera reordenados regulan el reordenamiento de los alelos restantes. En un estudio se crearon ratones transgénicos portadores de un transgén de cadena pesada μ reordenado. El producto del transgén μ fue expresado por un gran porcentaje de las células B, y se bloqueó el reordenamiento de los genes de cadena pesada de inmunoglobulina endógena. De igual forma, las células de un ratón transgénico que portaba un transgén de cadena ligera κ no reordenaron los genes endógenos de cadena κ cuando el transgén κ se expresó y se asoció a una cadena pesada para formar inmunoglobulina completa. Estos estudios sugirieron que la expresión de las proteínas de cadenas pesada y ligera puede prevenir en realidad el reordenamiento génico de los alelos restantes y, por consiguiente, explicar su exclusión alélica.

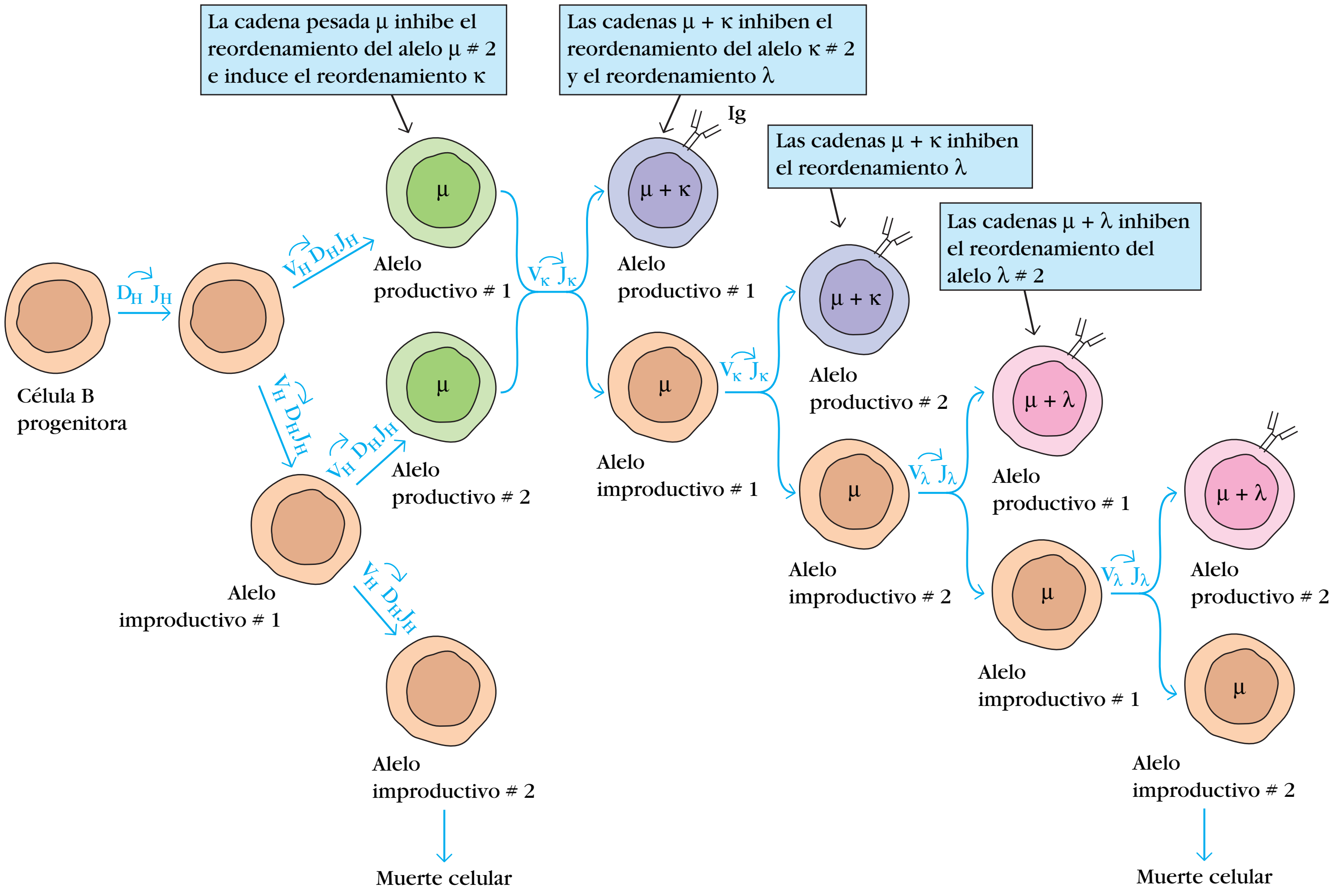

La cadena pesada μ inhibe el reordenamiento del alelo μ # 2 e induce el reordenamiento κ
Las cadenas μ + κ inhiben el reordenamiento del alelo κ # 2 y el reordenamiento λ
Ig
Las cadenas μ + κ inhiben el reordenamiento λ
Las cadenas μ + λ inhiben el reordenamiento del alelo λ # 2
Célula B progenitora
D_H J_H
V_H D_HJ_H
μ
Alelo productivo # 1
V_κ J_κ
μ + κ
Alelo productivo # 1
μ + κ
Alelo productivo # 2
μ + λ
Alelo productivo # 1
μ + λ
Alelo productivo # 2
μ
Alelo productivo # 2
μ
Alelo improductivo # 1
V_κ J_κ
μ
Alelo improductivo # 2
V_λ J_λ
μ
Alelo improductivo # 1
V_λ J_λ
μ
Alelo improductivo # 2
Muerte celular
Alelo improductivo # 1
V_H D_HJ_H
Alelo improductivo # 2
Muerte celular

FIGURA 5-11 **Modelo que explica la exclusión alélica.** Primero se reordenan los genes de cadena pesada, y una vez que ocurre el reordenamiento productivo de un gen de cadena pesada, el elemento proteínico μ impide el reordenamiento del otro alelo de cadena pesada e inicia el reordenamiento del gen de cadena ligera. En el ratón, el reordenamiento de los genes de cadena ligera κ precede al de los genes λ, como se muestra aquí. En el ser humano puede ocurrir el reordenamiento κ o λ una vez que tiene lugar el reordenamiento productivo de cadena pesada. La formación de una inmunoglobulina completa inhibe el reordenamiento adicional del gen de cadena ligera. Si sucede un reordenamiento improductivo para un alelo, entonces la célula intenta reordenar el otro alelo. *[Adaptada de G. D. Yancopoulos y F. W. Alt., 1986,* Annual Review of Immunology ***4****:339.]*

Generación de diversidad de anticuerpos

A medida que se descifró la organización de los genes de inmunoglobulina, comenzaron a dilucidarse los orígenes de la inmensa diversidad de la región variable. La teoría de la línea germinal, mencionada con anterioridad, argumentaba que la totalidad del repertorio de la región variable se codifica en la línea germinal del organismo y se transmite de los padres a la descendencia a través de las células germinales (óvulo y espermatozoide). La teoría de la variación somática sostenía que la línea germinal contiene un número limitado de genes variables, que se diversifican en las células somáticas mediante fenómenos de mutación o de recombinación durante el desarrollo del sistema inmunitario. Con la clonación y secuenciación de los genes de inmunoglobulina se justificaron en parte ambos modelos. Hasta la fecha se han identificado en ratones y el ser humano siete medios de diversificación de anticuerpos:

- Múltiples segmentos génicos de la línea germinal
- Unión combinatoria V(D)J
- Flexibilidad de unión
- Adición de nucleótido de región P (adición P)
- Adición de nucleótido de región N (adición N)
- Hipermutación somática
- Asociación combinatoria de cadenas ligeras y pesadas

Aunque no se conoce la contribución exacta de cada una de estas vías de diversificación para la diversidad total de anticuerpos, cada una contribuye de manera significativa al número inmenso de distintos anticuerpos que es capaz de generar el sistema inmunitario de los mamíferos.

Existen numerosos segmentos génicos V, D y J de la línea germinal

Un inventario de los segmentos génicos funcionales V, D y J en el DNA de la línea germinal de una persona reveló 48 V_H, 23 D, 6 J_H, 41 V_κ, 5 J_κ, 34 V_λ y 5 J_λ segmentos génicos. Además de estos segmentos funcionales, existen muchos seudogenes. Debe recordarse que estas cifras proceden en gran parte de un sobresaliente estudio que secuenció el DNA de los loci de inmunoglobulina de un solo individuo. Los loci de inmunoglobulina de otras personas pueden contener cifras ligeramente distintas de tipos particulares de segmentos génicos. Aunque en el ratón las cifras se conocen con menos precisión que en el ser humano, al parecer hay alrededor de 85 segmentos génicos V_κ y 134 V_H, cuatro segmentos J_H funcionales, cuatro J_κ funcionales, tres J_λ funcionales y 13 segmentos génicos D_H estimados, pero sólo tres segmentos génicos V_λ. Aunque el número de genes de la línea germinal que se encuentran en seres humanos o ratones es mucho menor que el predicho por quienes propusieron al principio el modelo de línea germinal, es claro que múltiples segmentos génicos V, D y J de la línea germinal promueven la diversidad de los sitios de unión de antígeno en los anticuerpos.

La unión combinatoria VJ y VDJ genera diversidad

La contribución de múltiples segmentos génicos de la línea germinal a la diversidad de anticuerpos es amplificada por el reordenamiento aleatorio de estos segmentos en células somáticas. Es posible calcular cómo es factible lograr tanta diversidad mediante reordenamientos génicos (cuadro 5-2). En el ser humano, la capacidad de cualesquiera de los 48 segmentos génicos V_H de combinarse con alguno de los 23 segmentos D_H y cualesquiera de los seis segmentos J_H permite obtener una considerable cifra de diversidad de genes de cadena pesada ($48 \times 23 \times 6 = 6\,624$ combinaciones posibles). De igual forma, los 41 segmentos génicos V_κ combinados de modo aleatorio con los cinco segmentos J_κ tienen el potencial de generar 205 posibles combinaciones en el locus κ, en tanto que 34 segmentos génicos V_λ y cinco J_λ posibilitan hasta 170 combinaciones en el locus λ humano. Es importante reconocer que éstos son cálculos mínimos de la diversidad potencial. Como se mencionó, la flexibilidad de la unión y la adición de nucleótidos P y N, y en especial la hipermutación somática, que se describe más adelante, en conjunto contribuyen enormemente a la diversidad de anticuerpos. Aunque no es posible hacer un cálculo exacto de su contribución, la mayoría de los investigadores en este campo acepta que aumentan el potencial para la diversidad de sitios de combinación de anticuerpos en el ser humano a mucho más de 10^{10}. Ello no significa que, en cualquier momento determinado, un individuo aislado tenga un repertorio de 10^{10} diferentes sitios de combinación de anticuerpo. Estas cifras muy considerables describen el conjunto de posibles variaciones, de las cuales cada sujeto lleva un subconjunto que es más pequeño en varios órdenes de magnitud.

La flexibilidad de unión contribuye a la diversidad

La enorme diversidad creada por las combinaciones V, D y J se incrementa de modo adicional por efecto de un fenómeno llamado **flexibilidad de unión**. Como ya se describió, la recombinación comprende tanto la unión de secuencias señal de recombinación para formar una unión señal como la unión de secuencias de codificación para crear una unión codificadora (fig. 5-7). Si bien las secuencias señal siempre se unen de manera precisa, muchas veces la unión de las secuencias de codificación es imprecisa. Por ejemplo, en un estudio se analizó la unión de las secuencias de codificación $V_\kappa 21$ y $J_\kappa 1$ en varias líneas de célula pre-B. El análisis de secuencia de las uniones señal y codificadora reveló el contraste en la precisión de la unión (fig. 5-12).

Como ya se ilustró, la flexibilidad de unión conduce a muchos reordenamientos improductivos, pero también genera combinaciones productivas que codifican aminoácidos alternativos en cada unión codificadora (fig. 5-9), lo que incrementa la diversidad de anticuerpos. Se ha demostrado que la variación de la secuencia de aminoácidos creada por la flexibilidad de unión en las uniones codificadoras se sitúa dentro de la tercera región hipervariable (CDR3) en el DNA de cadenas pesada y ligera de inmunoglobulina (cuadro 5-3). Debido a que a menudo la CDR3 contribuye en gran medida a la unión de antígeno por la molécula de anticuerpo, los cambios de aminoácidos inducidos por la flexibilidad de unión son importantes para generar diversidad de anticuerpos.

CUADRO 5-2 Diversidad combinatoria de anticuerpos en seres humanos y ratones

		CADENAS LIGERAS	
Múltiples segmentos de línea germinal	**Cadena pesada**	**κ**	**λ**
NÚMERO ESTIMADO DE SEGMENTOS EN SERES HUMANOS*			
V	48	41	34
D	23	0	0
J	6	5	5
Unión combinatoria VDJ y VJ (posible número de combinaciones)	48 × 23 × 6 = 6 624	41 × 5 = 205	34 × 5 = 170
Posibles relaciones combinatorias de las cadenas pesada y ligera†		6 624 × (205 + 170) = 2.48 × 10^6	+
NÚMERO ESTIMADO DE SEGMENTOS EN RATONES*			
V	134	85	2
D	13	0	0
J	4	4	3
Unión combinatoria VDJ y VJ (posible número de combinaciones)	101 × 13 × 4 = 5 252	85 × 4 = 340	2 × 3 = 6
Posibles relaciones combinatorias de las cadenas pesada y ligera†		5 252 × (340 + 6) = 1.82 × 10^6	

*Estas cifras se determinaron a partir de estudios de sujetos aislados; es posible que se observen ligeras diferencias entre distintos individuos. Asimismo, en el caso de los seres humanos, sólo se incluyeron en la lista segmentos génicos funcionales. El genoma contiene segmentos adicionales incapaces de reordenarse, que presentan codones de detención, o ambas cosas.

†Debido a la diversidad aportada por la flexibilidad de unión, la adición del nucleótido de región P, la adición del nucleótido de región N y la maduración somática, el potencial real excede estas estimaciones en varios órdenes de magnitud.

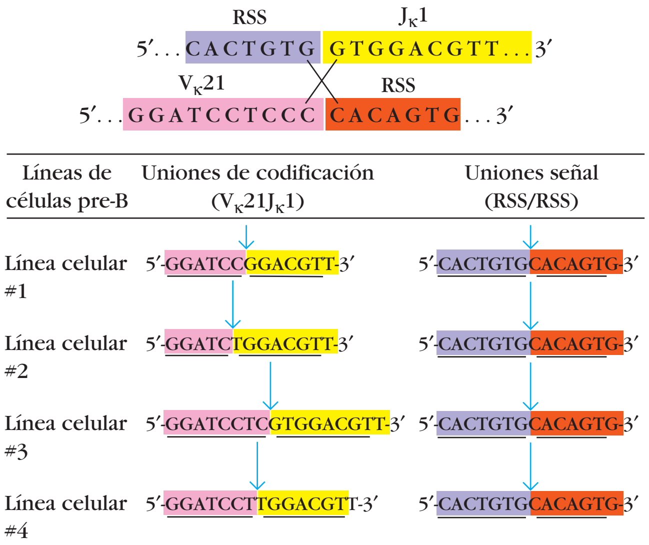

RSS
Jκ1
5′. . . CACTGTG GTGGACGTT. . . 3′
Vκ21
RSS
5′. . . GGATCCTCCC CACAGTG. . . 3′
Líneas de células pre-B
Uniones de codificación (Vκ21Jκ1)
Uniones señal (RSS/RSS)
Línea celular #1
5′-GGATCCGGACGTT-3′
5′-CACTGTGCACAGTG-3′
Línea celular #2
5′-GGATCTGGACGTT-3′
5′-CACTGTGCACAGTG-3′
Línea celular #3
5′-GGATCCTCGTGGACGTT-3′
5′-CACTGTGCACAGTG-3′
Línea celular #4
5′-GGATCCTTGGACGTT-3′
5′-CACTGTGCACAGTG-3′

FIGURA 5-12 Prueba experimental de la flexibilidad de unión en el reordenamiento del gen de inmunoglobulina. Las secuencias nucleotídicas laterales a las uniones de codificación entre $V_\kappa21$ y $J_\kappa1$ y las secuencias de unión señal correspondientes se determinaron en cuatro líneas de células pre-B. La constancia de secuencia en las uniones señal contrasta con la variabilidad de secuencia en las uniones de codificación. Los colores rosa y amarillo indican nucleótidos derivados de $V_\kappa21$ y $J_\kappa1$, respectivamente, y los colores púrpura y anaranjado corresponden a nucleótidos de las dos secuencias señal de recombinación (RSS).

CUADRO 5-3 Orígenes de la variación de secuencias en genes de cadenas pesadas y ligeras de la inmunoglobulina en regiones que determinan la complementariedad

Origen de la variación	**CDR1**	**CDR2**	**CDR3**
Secuencia codificada por:	Segmento V	Segmento V	Unión V_L-J_L; uniones V_H-D_H-J_H
Flexibilidad de la unión	–	–	+
Adición de nucleótido P	–	–	+
Adición de nucleótido N*	–	–	+
Hipermutación somática	+	+	+

*La adición del nucleótido N sólo ocurre en el DNA de cadena pesada.

La adición P añade diversidad a secuencias palindrómicas

Como se describió, después de la escisión inicial del DNA monocatenario en la unión de un segmento génico de región variable y la secuencia señal unida, los nucleótidos en el extremo de la secuencia de codificación se vuelven para formar una estructura en horquilla (fig. 5-7), que más adelante es escindida por una endonucleasa. Esta segunda rotura ocurre en ocasiones en una posición que deja una cadena única corta al final de la secuencia codificadora. La adición ulterior de nucleótidos complementarios a este filamento (**adición P**) por las enzimas reparadoras crea una secuencia palindrómica en la unión de codificación y, por ello, estos nucleótidos se denominan **nucleótidos P** (fig. 5-13a). La variación de la posición en que se corta la horquilla conduce por tanto a una variación de la secuencia de la unión codificadora.

La adición N promueve una considerable diversidad por la agregación de nucleótidos

Se ha probado que las uniones de codificación de la región variable en genes de cadena pesada reordenados contienen secuencias cortas de aminoácidos que no son codificados por los segmentos génicos V, D o J de la línea germinal. A estos aminoácidos los codifican nucleótidos que se añaden durante el proceso de unión de DJ y V a DJ en una reacción catalizada por una transferasa de desoxinucleotidilo terminal (TdT) (fig. 5-13b). Las pruebas que señalan que la adición de estos **nucleótidos N** depende de la TdT provienen de estudios de transfección de fibroblastos. Cuando se transfectaron fibroblastos con los genes *RAG-1* y *RAG-2* ocurrieron reordenamientos VDJ pero no hubo nucleótidos N en las uniones de codificación. Sin embargo, cuando los fibroblastos se transfectaron también con el gen que codifica la enzima TdT, entonces el reordenamiento VDJ se acompañó de la adición de nucleótidos N.

Es posible añadir hasta 15 nucleótidos N a las uniones D_H-J_H y V_H-D_HJ_H. Por consiguiente, una unidad $V_HND_HNJ_H$ codifica una región variable de cadena pesada completa. La diversidad adicional de la cadena pesada generada con la adición del nucleótido en la región N es muy grande, toda vez que al parecer las regiones N consisten en secuencias por completo aleatorias. Debido a que esta diversidad ocurre en las uniones de codificación VDJ, se localiza en la CDR3 de los genes de cadena pesada.

La hipermutación somática agrega diversidad en segmentos génicos ya reordenados

Toda la diversidad de anticuerpos descrita hasta el momento se debe a mecanismos que operan durante la formación de regiones variables específicas por reordenamientos génicos. Se crea una diversidad adicional de anticuerpos en unidades génicas de región variable reordenadas por un proceso conocido como **hipermutación somática**. Como resultado de esta última, nucleótidos individuales en unidades VJ o VDJ se sustituyen por otros, lo cual modifica potencialmente la especificidad de las inmunoglobulinas codificadas.

En condiciones normales, la hipermutación somática sólo ocurre dentro de centros germinales (cap. 11), estructuras que se forman en órganos linfoides secundarios en el transcurso de una semana tras la inmunización con un antígeno que activa una respuesta de célula B dependiente de célula T. La hipermutación somática se dirige a regiones V reordenadas situadas dentro de una secuencia de DNA que contiene alrededor de 1 500 nucleótidos, incluida la totalidad del segmento VJ o VDJ. La hipermutación somática ocurre a una frecuencia aproximada de 10^{-3} por par de bases por generación. Este ritmo es cuando menos 100 000 veces más alto (de allí el nombre *hipermutación*) que el índice de mutación espontánea, cercano a 10^{-8}/pb/generación, en otros genes. Debido a que la longitud combinada de los genes de región variable de las cadenas H y L tiene alrededor de 600 pb, cabría esperar

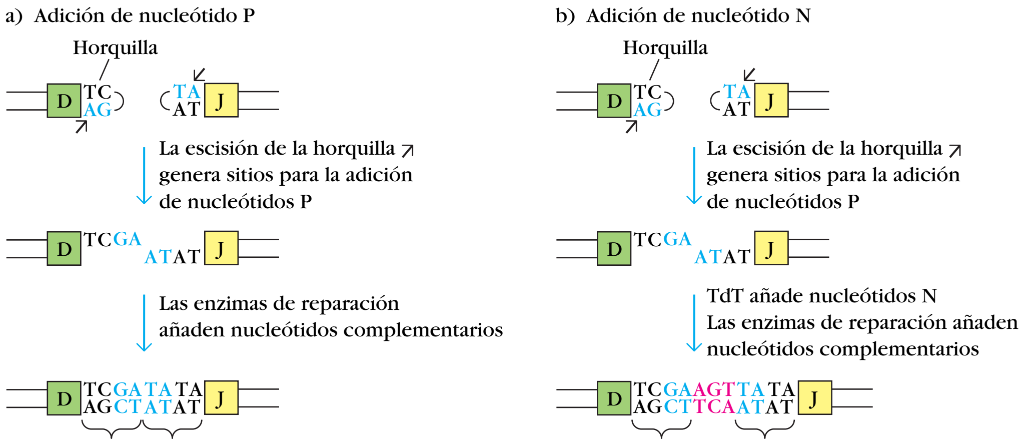

a) Adición de nucleótido P
Horquilla
D
TC
AG
TA
AT
J
La escisión de la horquilla genera sitios para la adición de nucleótidos P
TCGA
ATAT
Las enzimas de reparación añaden nucleótidos complementarios
TCGATATA
AGCTATAT
b) Adición de nucleótido N
Horquilla
La escisión de la horquilla genera sitios para la adición de nucleótidos P
TdT añade nucleótidos N
Las enzimas de reparación añaden nucleótidos complementarios
TCGAAGTTATA
AGCTTCAATAT

FIGURA 5-13 Adición de nucleótidos P y N durante la unión. a) Si la escisión del intermediario en horquilla produce un extremo de doble cadena en la secuencia de codificación, entonces no ocurre la adición de un nucleótido P. Sin embargo, en muchos casos la escisión proporciona un extremo monocatenario. Durante la reparación ulterior se añaden nucleótidos complementarios llamados nucleótidos P para producir secuencias palindrómicas (indicadas entre paréntesis). En este ejemplo se encuentran cuatro pares de bases adicionales (azul) en la unión de codificación como resultado de la adición del nucleótido P. b) Además de la adición del nucleótido P, durante la unión de la secuencia codificadora de cadena pesada puede ocurrir la adición de nucleótidos N aleatorios (rojo) por una transferasa de desoxinucleotidilo terminal (TdT).

que la hipermutación somática introdujera cuando menos una mutación por cada dos divisiones celulares en el par de genes V_H y V_L que codifican un anticuerpo.

Durante la hipermutación somática, la mayoría de las mutaciones son sustituciones de nucleótidos más que deleciones o inserciones. La hipermutación somática introduce estas sustituciones de una manera en gran medida aleatoria. Determinados motivos en las secuencias de nucleótidos y ciertas secuencias palindrómicas dentro de las regiones V_H y V_L son especialmente susceptibles a la hipermutación somática y se denominan "puntos calientes".

Ocurren hipermutaciones somáticas a todo lo largo de los segmentos VJ o VDJ, pero en células B maduras están agrupadas dentro de las CDR de las secuencias V_H y V_L, en donde es más probable que modifiquen la afinidad total para antígenos. Después de la exposición a un antígeno se seleccionan de manera preferencial para sobrevivir las células B con los receptores de afinidad más alta. El resultado de esta selección diferencial es un incremento de la afinidad por antígeno de una población de células B. El proceso total, llamado **maduración de afinidad**, se lleva a cabo dentro de centros germinales y se describe con mayor amplitud en el capítulo 11.

En un experimento ya clásico, Claudia Berek y Cesar Milstein demostraron la realidad y el curso de la hipermutación somática durante una respuesta inmunitaria a un conjugado de hapteno y portador. Estos investigadores pudieron establecer la secuencia de mRNA que codificaba anticuerpos desarrollados contra un hapteno en respuesta a las inmunizaciones primaria, secundaria o terciaria (primera, segunda o tercera exposiciones) con un conjugado de hapteno y portador. El hapteno que eligieron fue 2-fenil-5-oxazolona (phOx), acoplado a un portador proteínico. Seleccionaron este hapteno porque se había demostrado antes que la mayor parte de los anticuerpos que inducía eran codificados por segmentos génicos V_H y V_κ de la línea germinal únicos. Berek y Milstein inmunizaron ratones con el conjugado phOx-portador y en seguida utilizaron células de bazo de ratón para formar hibridomas que secretaron anticuerpos monoclonales específicos para el hapteno phOx. A continuación se

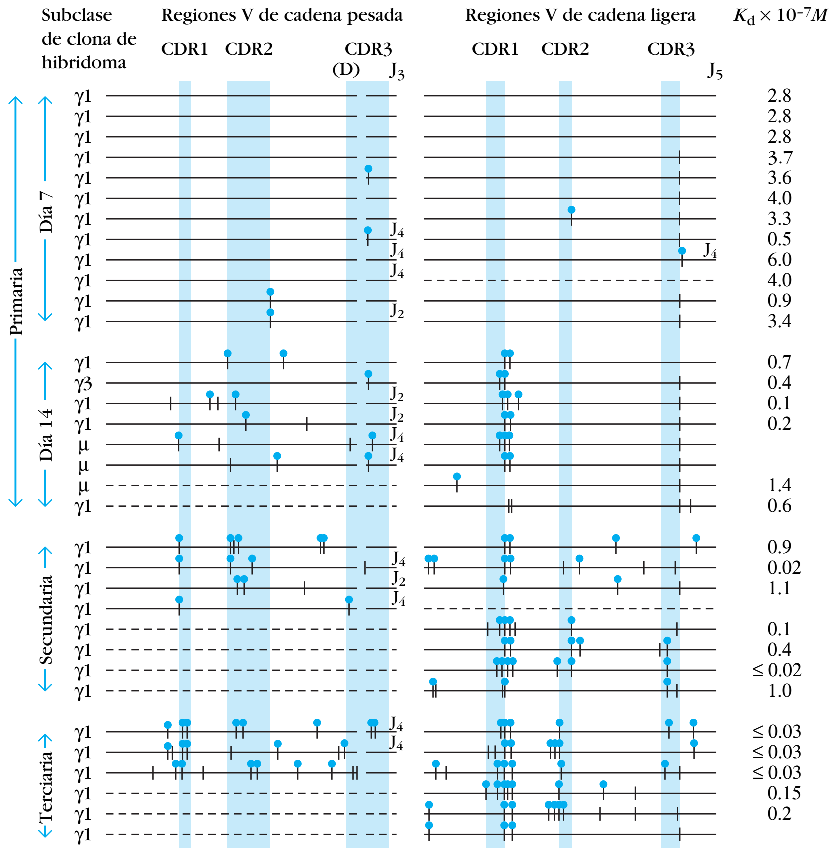


FIGURA 5-14 Prueba experimental de la mutación somática en regiones variables de los genes de inmunoglobulina. El diagrama compara las secuencias de mRNA de cadenas pesadas y ligeras de hibridomas específicos para el hapteno phOx. Las líneas horizontales continuas representan las secuencias de línea germinal V_H y V_κ Ox-1; las líneas discontinuas indican secuencias derivadas de otros genes de línea germinal. La sombra azul muestra las áreas en que se agrupan las mutaciones; los círculos azules con líneas verticales señalan las localizaciones de mutaciones que codifican un aminoácido diferente del de la secuencia de la línea germinal. Estos datos demuestran que la frecuencia de mutación 1) aumenta en el curso de la respuesta primaria (días 7° contra 14°) y 2) es más alta después de inmunizaciones secundarias y terciarias que tras la inmunización primaria. Más aún, la constante de disociación (K_d) de los anticuerpos anti-phOx disminuye durante la transición de la respuesta primaria a la terciaria, lo que indica un incremento de la afinidad total del anticuerpo. Obsérvese asimismo que la mayor parte de las mutaciones se agrupan dentro de CDR1 y CDR2, tanto de las cadenas pesadas como de las ligeras. *[Adaptada de C. Berek y C. Milstein 1987,* Immunology Review ***96:****23.]*

determinó la secuencia de mRNA para la cadena H y la cadena ligera κ de cada hibridoma a fin de identificar desviaciones respecto de las secuencias de la línea germinal.

En la figura 5-14 se muestran los resultados de este experimento. De los 12 hibridomas obtenidos en ratones siete días después de la inmunización primaria, todos emplearon un V_H particular, el segmento génico V_H Ox-1 y, con excepción de uno, los restantes usaron el mismo segmento génico V_L, V_κ Ox-1. Más aún, en estos hibridomas sólo existían unas cuantas mutaciones en la secuencia de la línea germinal. Alrededor de 14 días después de la inmunización primaria, el análisis de ocho hibridomas reveló que seis utilizaban aún el segmento génico V_H Ox-1 de la línea germinal y todos empleaban todavía el segmento génico V_κ Ox-1. Sin embargo, todos estos hibridomas incluían una o más mutaciones de la secuencia de la línea germinal. Los hibridomas analizados a partir de las respuestas secundaria y terciaria mostraron un porcentaje más grande que utilizaba segmentos génicos V_H de la línea germinal aparte del gen V_H Ox-1. En las clonas de hibridomas que usaban segmentos génicos V_H Ox-1 y V_κ Ox-1, casi todas las mutaciones estaban agrupadas en las regiones hipervariables CDR1 y CDR2. Después de las inmunizaciones primaria, secundaria y terciaria, aumentó de modo progresivo el número de mutaciones en los hibridomas anti-phOx, al igual que la afinidad total de los anticuerpos contra phOx.

Un origen último de la diversidad es la asociación combinatoria de cadenas pesada y ligera

En el ser humano existe el potencial de generar 6 624 genes de cadena pesada y 375 de cadena ligera como resultado de reordenamientos del gen de la región variable. Si se supone que cada uno de los posibles genes de cadenas pesada y ligera puede aparecer de modo aleatorio en la misma célula, el número posible de combinaciones de cadenas pesada y ligera es de 2 484 000. Es probable que esta cifra sea más alta que la cantidad de diversidad combinatoria creada en realidad en un individuo, ya que no es probable que todos los V_H y V_L formen pares entre sí. Más aún, el proceso de recombinación no es del todo aleatorio; no se utilizan con la misma frecuencia todos los segmentos génicos V_H, D o V_L. Algunos se usan con frecuencia, otros de manera ocasional y algunos más casi nunca.

Aunque es difícil calcular con precisión el número de diferentes sitios de combinación de anticuerpo que puede generar el sistema inmunitario, se sabe que es muy alto. Debido a que la gran cantidad de nuevas secuencias creadas por la flexibilidad de unión y la adición de nucleótidos P y N se hallan dentro de la tercera CDR, su disposición modifica la estructura del sitio de unión de anticuerpo. Además de estas causas de diversidad de anticuerpos, el fenómeno de hipermutación somática contribuye enormemente al repertorio después de la estimulación por antígeno.

La diversificación de los genes de inmunoglobulina difiere entre las especies

En seres humanos y ratones, el repertorio primario de genes de inmunoglobulina es creado de manera somática por el reordenamiento combinatorio de una extensa biblioteca de segmentos génicos V, (D) y J de la línea germinal. Además, en esas especies la generación de un repertorio primario ocurre principalmente en la médula ósea. Como se expondrá en detalle en el capítulo 11, en la mayoría del resto de los vertebrados se observa una desviación respecto de este patrón. De hecho, la médula ósea no es un sitio de desarrollo de células B, y en aves, conejos, ovinos, bovinos y algunas otras especies, gran parte de este proceso clave ocurre en tejidos linfoides intestinales (GALT). Asimismo, muchas especies utilizan mecanismos distintos (o adicionales) del reordenamiento combinatorio de genes V, (D) y J de la línea germinal para generar un repertorio primario diversificado de genes de anticuerpo. Se observan dos diferencias importantes entre muchas otras especies y ser humano y ratón. En primer lugar, algunas especies utilizan sólo un reordenamiento (o unos pocos de ellos) de genes V(D)J de la línea germinal. Esto contrasta con los muchos reordenamientos típicos de seres humanos y ratones. En segundo lugar, en otras especies se emplea la hipermutación somática u otro proceso llamado *conversión génica* para diversificar ampliamente los genes reordenados, mientras que en las especies humana y murina el repertorio primario de genes reordenados no es diversificado adicionalmente por mutación somática o conversión génica. Durante la **conversión génica**, que es un caso especial de mutación somática, porciones de la secuencia de un gen, el receptor, se modifican para asumir la secuencia correspondiente de un gen donante. El gen donante, cuya secuencia permanece sin cambio, actúa como plantilla para la conversión de una parte de la secuencia del receptor. De hecho, la conversión génica, que sólo ocurre entre genes muy similares en su secuencia (>80% idénticos), algunas veces se denomina **mutación somática en plantilla** porque el donante actúa como una plantilla para la modificación de una región homóloga del receptor a fin de hacerla igual a la secuencia del gen donante.

En pollos, la línea germinal contiene un solo gen funcional para V_L, V_H y (D)J el cual puede experimentar reordenamiento, y grandes cantidades de seudogenes V_λ y V_H los cuales no pueden reordenarse (fig. 5-15). Después del reordenamiento mediado por RAG de su repertorio drásticamente limitado de genes V(D)J de la línea germinal, que produce una sola unidad V(D)J, las células B de los pollos migran a un órgano llamado bolsa de Fabricio, que es parte del GALT en esa especie. En microambientes especializados de la bolsa, esas células experimentan rápida proliferación y extensa diversificación (mediada por conversión génica) de sus genes de inmunoglobulina reordenados. El gran número de seudogenes corriente arriba actúan como donantes para la conversión de cortos tramos del receptor V(D)J reordenado. Como se muestra en la figura 5-15, varios seudogenes pueden actuar como donantes para un solo gen V(D)J reordenado, de manera que modifican su secuencia de la línea germinal en varios lugares. Además de la conversión génica, los pollos experimentan algo de hipermutación somática ordinaria.

Los conejos también reordenan muy pocos genes para V_H de cadena ligera y diversifican el repertorio de anticuerpos por conversión génica e hipermutación somática. En ellos, al igual que en los pollos, estos procesos ocurren en el GALT, particularmente en microambientes especializados del apéndice. Rumiantes como la vaca y la oveja diversifican sus repertorios de anticuerpos por hipermutación somática en la placa de Peyer ileal, un tipo de GALT.

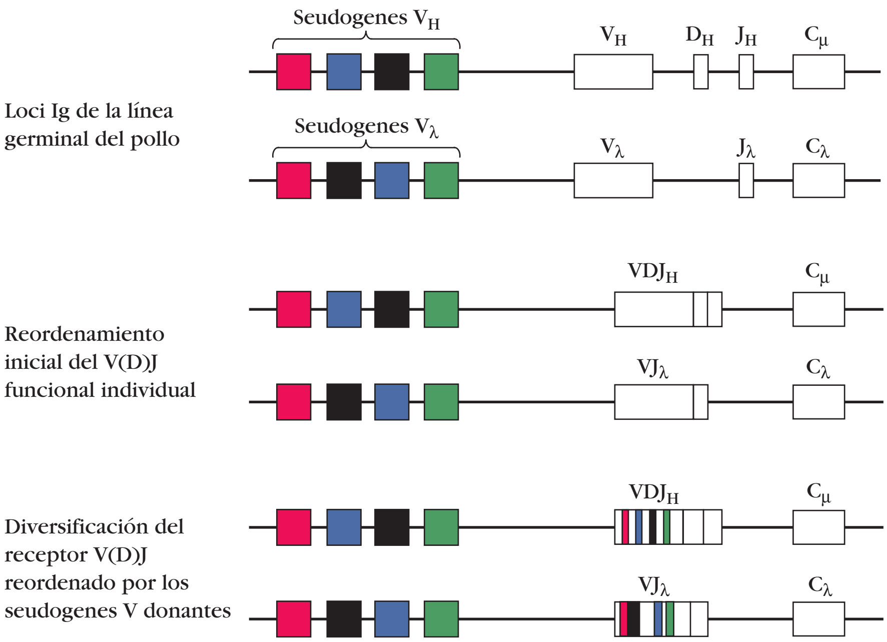


FIGURA 5-15 En pollos, la diversificación de la inmunoglobulina ocurre por conversión génica. En la línea germinal del pollo, los genes de inmunoglobulina V_H y V_λ funcionales individuales son precedidos por muchos seudogenes. El reordenamiento crea un V(D)J reordenado funcional único. La conversión génica introduce diversidad en los segmentos V de los genes V(D)J reordenados usando seudogenes V corriente arriba como plantilla.

Cambio de clase entre genes de la región constante

Después de la estimulación antigénica de una célula B, el DNA de cadena pesada puede experimentar un reordenamiento adicional en el que la unidad $V_HD_HJ_H$ suele combinarse con cualquier segmento génico C_H. Aún no se aclara el mecanismo exacto de este proceso, llamado **cambio de clase** o **cambio de isotipo**, pero incluye secuencias laterales de DNA (conocidas como **regiones de cambio**) ubicadas 2 a 3 kb (kilobases) corriente arriba de cada segmento de C_H (excepto C_δ). Estas regiones de cambio, aunque bastante grandes (2 a 10 kb), se integran con múltiples copias de repeticiones cortas (GAGCT y TGGGG). Una hipótesis señala que una proteína o sistema de proteínas que constituyen la recombinasa de cambio reconocen estas repeticiones y al unirse llevan a cabo la recombinación del DNA, lo que tiene como resultado el cambio de clase. Las proteínas reguladoras intercelulares, que se conocen como citocinas, actúan como "factores de cambio" y tienen funciones relevantes en la determinación de la clase particular de inmunoglobulina que se expresa como una consecuencia del cambio. Por ejemplo, la interleucina 4 (IL-4) induce un cambio de clase de C_μ a $C_\gamma1$ o C_ϵ. En algunos casos se advierte que IL-4 provoca un cambio de clase en una forma sucesiva: primero de C_μ a $C_\gamma1$ y a continuación de $C_\gamma1$ a C_ϵ (fig. 5-16). El examen de los productos de escisión del DNA obtenidos durante el cambio de clase de C_μ a $C_\gamma1$ indica que se creó un producto de escisión circular que contenía C_μ junto con el extremo 5′ de la región de cambio γ1 ($S_\gamma1$) y el extremo 3′ de la región de cambio μ (S_μ). Más aún, el cambio de $C_\gamma1$ a C_ϵ dio lugar a productos de escisión circulares que contenían $C_\gamma1$ junto con porciones de las regiones de cambio μ, γ y ϵ. En general, el cambio de clase depende de la interrelación de tres elementos: regiones de cambio, una recombinasa de cambio, las señales de citocina que determinan el isotipo al cual cambia la célula B, y una enzima llamada *desaminasa de citidina inducida por activación* (**AID**, del inglés *activation-induced cytidine deaminase*), cuyo papel decisivo se analiza en la siguiente sección. En el capítulo 11 se describe con más detalle la función de las citocinas en el cambio de clase.

La desaminasa de citidina inducida por activación (AID) media tanto la hipermutación somática como el cambio de clase

En este capítulo se han presentado tres tipos distintos de modificación de genes de inmunoglobulina de seres humanos y ratones: recombinación V(D)J, hipermutación somática y recombinación por cambio de clase. (También se describió la conversión génica, que ocurre en otras especies.) El reordenamiento y el ensamblaje de segmentos génicos de la línea germinal durante la recombinación V(D)J forma un gen de inmunoglobulina funcional. La hipermutación somática introduce cambios en la región variable de los genes de Ig los cuales pueden modificar las propiedades de unión a antígeno de los anticuerpos codificados por esos genes. La recombinación por cambio de clase permite a una unidad V(D)J dada unirse a diferentes regiones constantes, lo cual determina la función efectora de la molécula de Ig. Los genes activadores de la recombinación, *RAG1* y *RAG2*, son responsables de la recombinación de V(D)J. En estudios recientes se ha demostrado que una enzima, la **desaminasa de citidina inducida por activación** (**AID**, del inglés *activation-induced cytidine deaminase*) es la mediadora clave de hipermutación somática, conversión génica y recombinación por cambio de clase. La AID pertenece a una familia de enzimas llamada enzimas editoras de RNA. La AID desamina citosinas selectas en determinados mRNA al cambiar las citosinas por uracilos y por tanto modificar (editar) las instrucciones de codificación de proteínas del RNA mensajero blanco. Existen informes de que esta enzima también es capaz de modificar DNA directamente por medio de

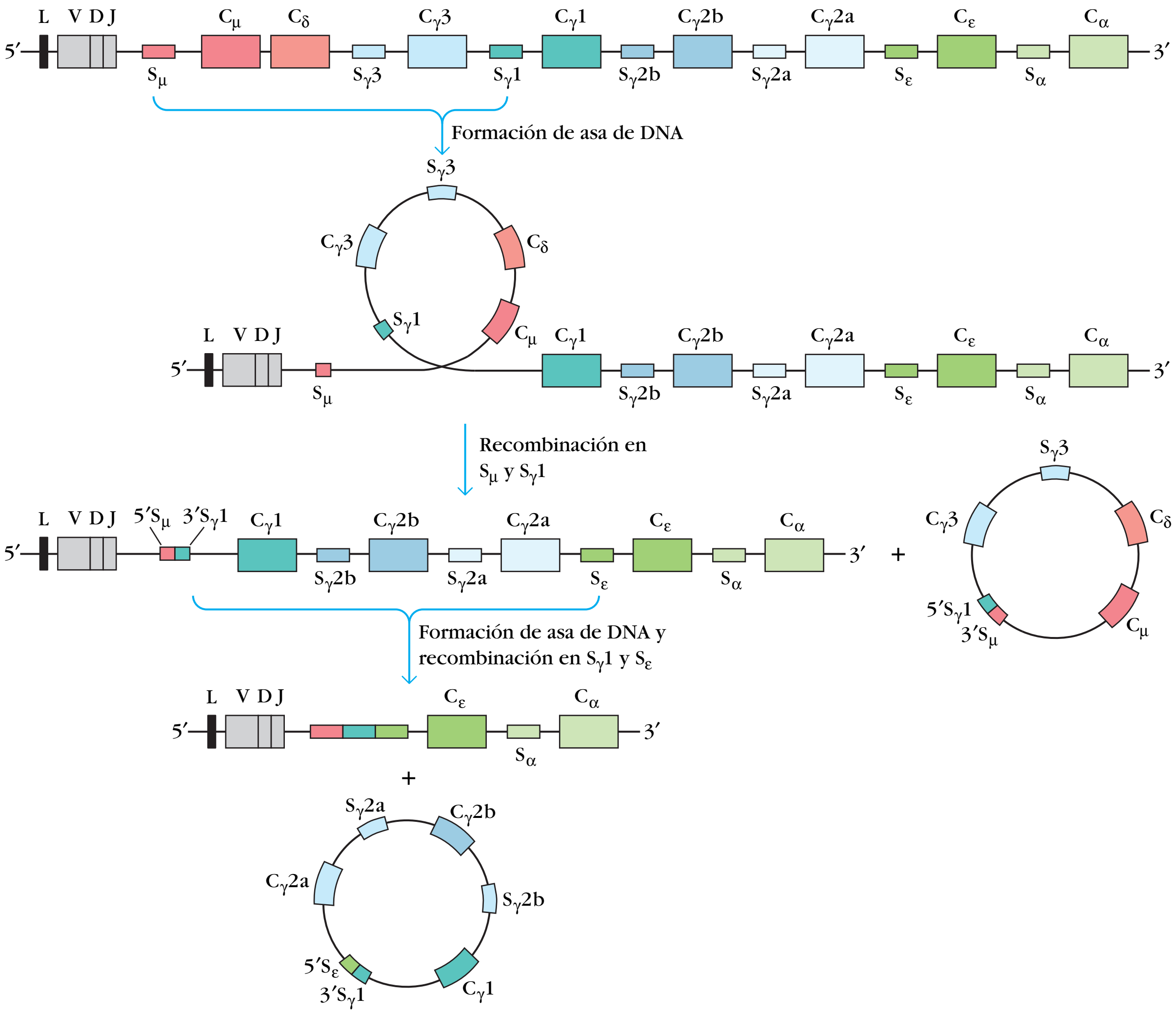

L
V D J
C_μ
C_δ
$C_{\gamma}3$
$C_{\gamma}1$
$C_{\gamma}2b$
$C_{\gamma}2a$
C_ε
C_α
5′
3′
S_μ
$S_{\gamma}3$
$S_{\gamma}1$
$S_{\gamma}2b$
$S_{\gamma}2a$
S_ε
S_α
Formación de asa de DNA
Recombinación en S_μ y $S_{\gamma}1$
5′S_μ
3′$S_{\gamma}1$
+
5′$S_{\gamma}1$
3′S_μ
Formación de asa de DNA y recombinación en $S_{\gamma}1$ y S_ε
5′S_ε
3′$S_{\gamma}1$

FIGURA 5-16 Mecanismo propuesto para el cambio de clase inducido por interleucina 4 en los genes de cadena pesada de la inmunoglobulina reordenados. Un sitio de cambio se localiza corriente arriba de cada segmento C_H, excepto C_δ. La identificación de los productos circulares de escisión indicados que contienen porciones de los sitios de cambio sugiere que IL-4 induce un cambio de clase secuencial de C_μ a $C_{\gamma}1$ a C_ϵ.

la desaminación de citosina, cuyo resultado es nuevamente la formación de uracilo, el cual no es uno de los nucleótidos habituales en el DNA. El sitio de desaminación puede ser reparado después para formar un par A-T en vez de G-C, o de manera alternativa es posible que el uracilo se elimine y sustituya por cualesquiera de las cuatro bases del DNA. Aunque aún se investiga activamente el mecanismo preciso de acción de la AID, es bastante clara su importancia tanto para la hipermutación somática como para la recombinación por cambio de clase (fig. 5-17a).

En un impresionante experimento realizado en la Universidad de Kioto, en Japón, Tasuku Honjo y sus colegas generaron ratones con el gen para AID desactivado. Compararon la capacidad de estos ratones (AID −/−) de realizar cambio de clase e hipermutación somática con la de ratones que conservaban una copia funcional del gen para AID (AID +/−). Los datos de la figura 5-17b muestran que a medida que se desarrollaba una inmunorreacción después de inmunizaciones sucesivas, los ratones con una copia funcional del gen para AID producían primero anticuerpos IgM y luego IgG contra el antígeno blanco. Sin embargo, en los ratones con el gen para AID desactivado sólo se generaban anticuerpos IgM en respuesta a la inmunización con el mismo antígeno. Para buscar indicios de hipermutación somática, los investigadores examinaron el RNA mensajero que codificaba las regiones variables de cadena pesada de anticuerpos contra el antígeno de ambos ratones (AID −/−) y (AID +/−). Descubrieron que mientras que los ratones (AID +/−) tenían niveles normales de hipermutación, los ratones con la desactivación génica no presentaban hipermutación somática en absoluto. Este sorprendente resultado demostró que la misma proteína, AID, era esencial tanto para la hipermutación somática como para el cambio de clase. En estudios ulteriores de estos investigadores, el gen para AID se introdujo en fibroblastos, los cuales se sabe que no realizan hipermutación somática ni cambio de clase. Ambas funciones se activaron cuando la AID se expresó en estas células no linfoides. Este descubrimiento altamente significativo demostró que la AID es el único factor necesario para realizar cualesquiera de estos procesos distintivos de la célula B.

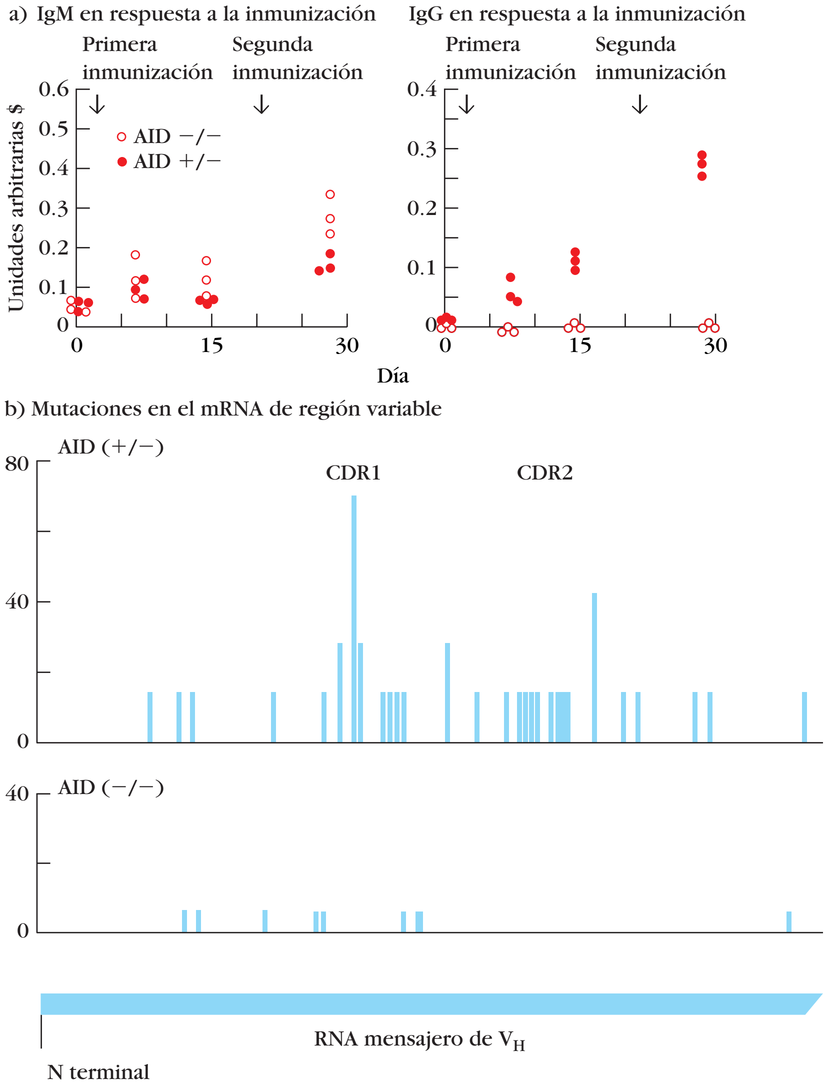


FIGURA 5-17 Demostración experimental del papel de la enzima AID en el cambio de clase y la hipermutación somática. a) Un grupo de ratones que expresaban AID (+/−) y otro con desactivación de ese gen (−/−) se inmunizaron dos veces con un conjugado hapteno-portador, y las respuestas de anticuerpo contra hapteno se midieron y graficaron en unidades arbitrarias. Se detectaron respuestas de IgM en ambos tipos de ratones. La producción de IgG, que requiere cambio de clase, ocurrió sólo en los ratones que expresaban AID (+/−). b) Se determinó la secuencia del RNA mensajero que codificaba las regiones variables de anticuerpos reactivos a antígeno en ratones inmunizados de ambos grupos, y se graficó la posición y frecuencia de mutaciones. En los ratones que expresan AID se observan muchas mutaciones; en cambio, en los ratones con desactivación del gen para AID sólo se observaron niveles de mutación de fondo. *[Adaptada de M. Muramatsu et al., 2000,* Cell ***102**:560.]*

Expresión de genes de inmunoglobulina

Como ocurre en muchos genes, para obtener mRNA funcionales se requiere el procesamiento postranscripcional de los transcritos primarios de la inmunoglobulina (figs. 5-4 y 5-5). Los transcritos primarios producidos por genes de cadena pesada y reordenados contienen secuencias de DNA intermedias que incluyen intrones que no codifican y segmentos génicos J que no se pierden durante el reordenamiento de V(D)J. Además, como se comentó, los segmentos génicos C de cadena pesada están organizados como una serie de exones de codificación e intrones que no codifican. Cada exón de un segmento génico C_H corresponde a un dominio de región constante o una región en bisagra del polipéptido de cadena pesada. El transcrito primario debe procesarse para eliminar las secuencias de DNA intermedias y los exones restantes conectarse por un proceso llamado empalme de RNA. Secuencias de empalme cortas moderadamente conservadas (sitios de empalme) que se hallan en los límites de intrones y exones dentro de una transcripción primaria señalan las posiciones en que ocurre el empalme. El procesamiento del transcrito primario en el núcleo elimina cada una de estas secuencias intermedias para formar el producto final, mRNA. A continuación el mRNA sale del núcleo y es traducido por ribosomas en cadenas H o L completas.

Los transcritos primarios de cadena pesada experimentan procesamiento diferencial del RNA

El procesamiento de un transcrito primario de cadena pesada de inmunoglobulina puede generar diferentes mRNA, lo que explica cómo una célula B aislada puede crear formas secretadas o unidas a membrana de una inmunoglobulina particular y expresar de manera simultánea IgM e IgD.

Expresión de inmunoglobulina de membrana o secretada

Como se explica en el capítulo 3, una inmunoglobulina particular puede existir en una forma unida a membrana o secretada. Las dos variedades difieren en la secuencia de aminoácidos de los dominios carboxilo terminales de la cadena pesada (C_H3/C_H3 en IgA, IgD e IgG y C_H4/C_H4 en IgE e IgM). La forma

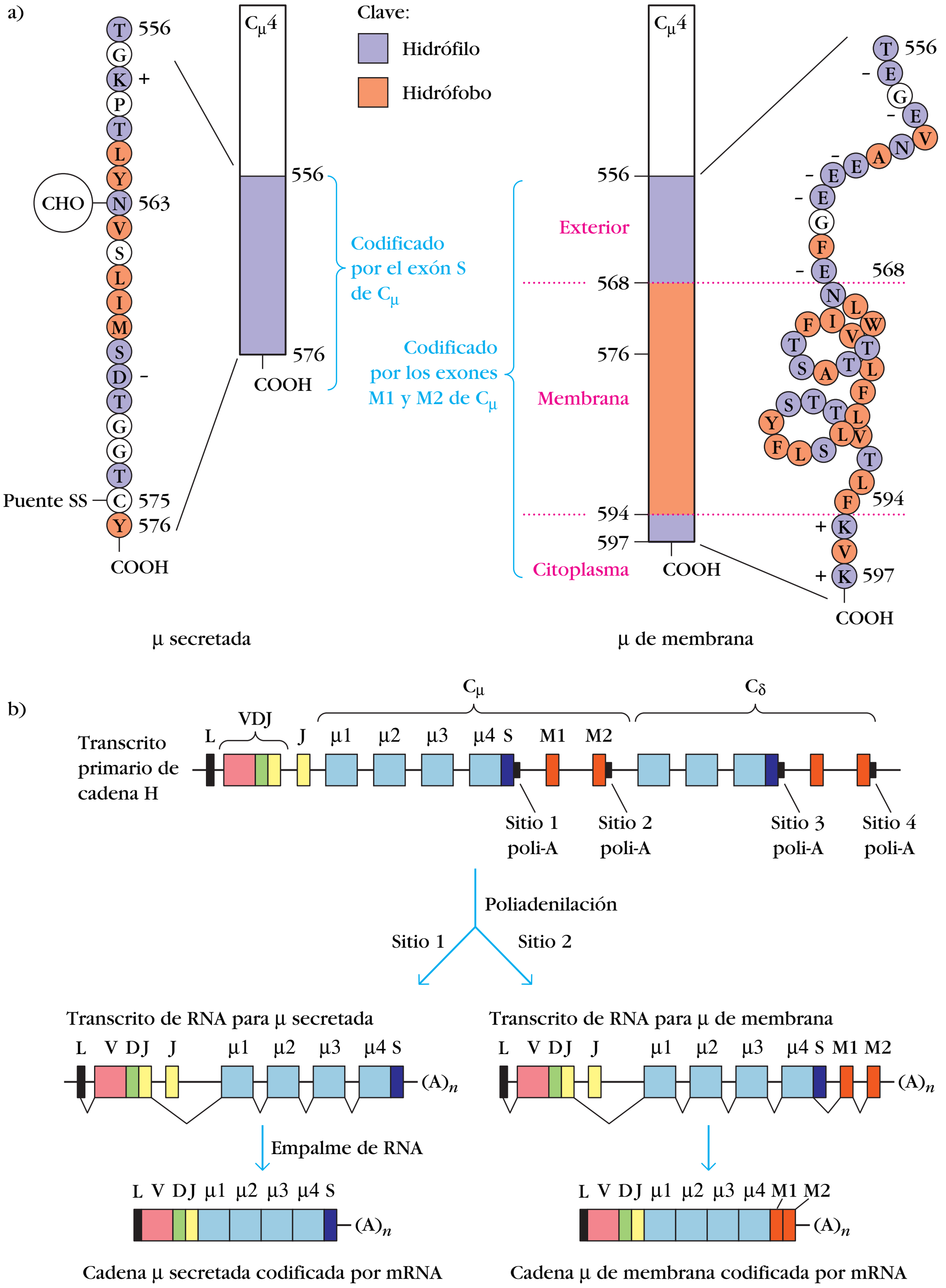

a)
T 556
G
K +
P
T
L
Y
CHO
N 563
V
S
L
I
M
S
D –
T
G
G
T
Puente SS
C 575
Y 576
COOH
Cμ4
556
576
COOH
Clave:
Hidrófilo
Hidrófobo
Codificado por el exón S de Cμ
Codificado por los exones M1 y M2 de Cμ
Exterior
Membrana
Citoplasma
556
568
576
594
597
COOH
Cμ4
T 556
E –
G
E –
V
N
A
E
E –
E –
G
F
E – 568
N
L
W
I
F
V
T
T
T
S
A
L
F
S
T
L
T
Y
L
V
F
L
S
T
L
F 594
K +
V
K + 597
COOH
μ secretada
μ de membrana
b)
Cμ
Cδ
VDJ
Transcrito primario de cadena H
L
J
μ1
μ2
μ3
μ4
S
M1
M2
Sitio 1 poli-A
Sitio 2 poli-A
Sitio 3 poli-A
Sitio 4 poli-A
Poliadenilación
Sitio 1
Sitio 2
Transcrito de RNA para μ secretada
L V DJ J μ1 μ2 μ3 μ4 S
(A)n
Empalme de RNA
L V DJ μ1 μ2 μ3 μ4 S
(A)n
Cadena μ secretada codificada por mRNA
Transcrito de RNA para μ de membrana
L V DJ J μ1 μ2 μ3 μ4 S M1 M2
(A)n
L V DJ μ1 μ2 μ3 μ4 M1 M2
(A)n
Cadena μ de membrana codificada por mRNA

FIGURA 5-18 Expresión de las formas secretada y de membrana de la cadena pesada por procesamiento alternativo del RNA. a) Secuencia de aminoácidos del extremo carboxilo terminal de las cadenas pesadas μ secretadas y de membrana. Los residuos se indican por el código de aminoácidos de una letra. Los residuos y regiones hidrófilos e hidrófobos están indicados por los colores púrpura y anaranjado, respectivamente, y los aminoácidos con carga se indican por medio de los signos + o −. Las regiones blancas de las secuencias son idénticas en ambas formas. b) Estructura de un transcrito primario de un gen de cadena pesada reordenado que muestra los sitios de exones C_μ y poli-A. La poliadenilación del transcrito primario en los sitios 1 y 2 y el empalme ulterior (señalada por líneas en forma de V) generan mRNA que codifican cadenas μ secretadas o de membrana.

secretada tiene una secuencia hidrófila de unos 20 aminoácidos en el dominio carboxilo terminal; en la forma unida a membrana la reemplaza una secuencia de alrededor de 40 aminoácidos que contiene un segmento hidrófilo que se extiende fuera de la célula, un segmento hidrófobo transmembranal y un segmento hidrófilo corto en el extremo carboxilo terminal que se extiende hacia el interior del citoplasma (fig. 5-18a). Durante algún tiempo la existencia de estas dos formas pareció incompatible con la estructura del DNA de la cadena pesada de la línea germinal, que incluye un segmento génico C_H único correspondiente a cada clase y subclase.

La respuesta a este acertijo provino de la secuenciación del DNA del segmento génico C_μ, el cual posee cuatro exones ($C_\mu 1$, $C_\mu 2$, $C_\mu 3$ y $C_\mu 4$) que corresponden a los cuatro dominios de la molécula de inmunoglobulina M (IgM). El exón $C_\mu 4$ contiene una secuencia nucleotídica (llamada S) en su extremo 3′ que codifica la secuencia hidrófila en el dominio $C_H 4$ de la IgM secretada. Dos exones adicionales llamados M1 y M2 se localizan 1.8 kb corriente abajo del extremo 3′ del exón $C_\mu 4$. El exón M1 codifica el segmento transmembranal y el M2 codifica el segmento citoplásmico del dominio $C_H 4$ en la IgM unida a membrana. La secuenciación del DNA reveló que todos los elementos génicos C_H tienen dos exones M1 y M2 adicionales corriente abajo que codifican los segmentos transmembranales y citoplásmico.

El transcrito primario producido por la transcripción de un gen de cadena pesada μ reordenado incluye dos secuencias señal de poliadenilación, o sitios poli-A, en el segmento C_μ. El sitio uno se localiza en el extremo 3′ del exón $C_\mu 4$ y el sitio dos en el extremo 3′ del exón M2 (fig. 5-18b). Si ocurre la escisión del transcrito primario y la adición de la cola poli-A en el sitio uno, se pierden los exones M1 y M2. La escisión de los intrones y el empalme de los exones restantes crean entonces mRNA que codifica la forma secretada de la cadena H. Si, en lugar de ello, la segmentación y poliadenilación del transcrito primario suceden en el sitio dos, entonces resulta un patrón de superposición diferente. En este caso, la superposición elimina la secuencia S en el extremo 3′ del exón $C_\mu 4$, que codifica el extremo carboxilo terminal (hidrófilo) de la forma secretada y une el resto del exón $C_\mu 4$ con los exones M1 y M2, lo que produce mRNA para la forma membranal de la cadena pesada.

Así, el procesamiento diferencial de un transcrito primario común determina si se obtiene la forma secretada o de membrana de una inmunoglobulina. Como se comentó con anterioridad, las células B vírgenes maduras sólo liberan anticuerpo unido a membrana, en tanto que las células plasmáticas diferenciadas elaboran anticuerpos secretados. Aún es necesario establecer con precisión la forma en que las células B vírgenes y las células plasmáticas dirigen el procesamiento del RNA de modo preferencial hacia la producción de mRNA al codificar una forma o la otra.

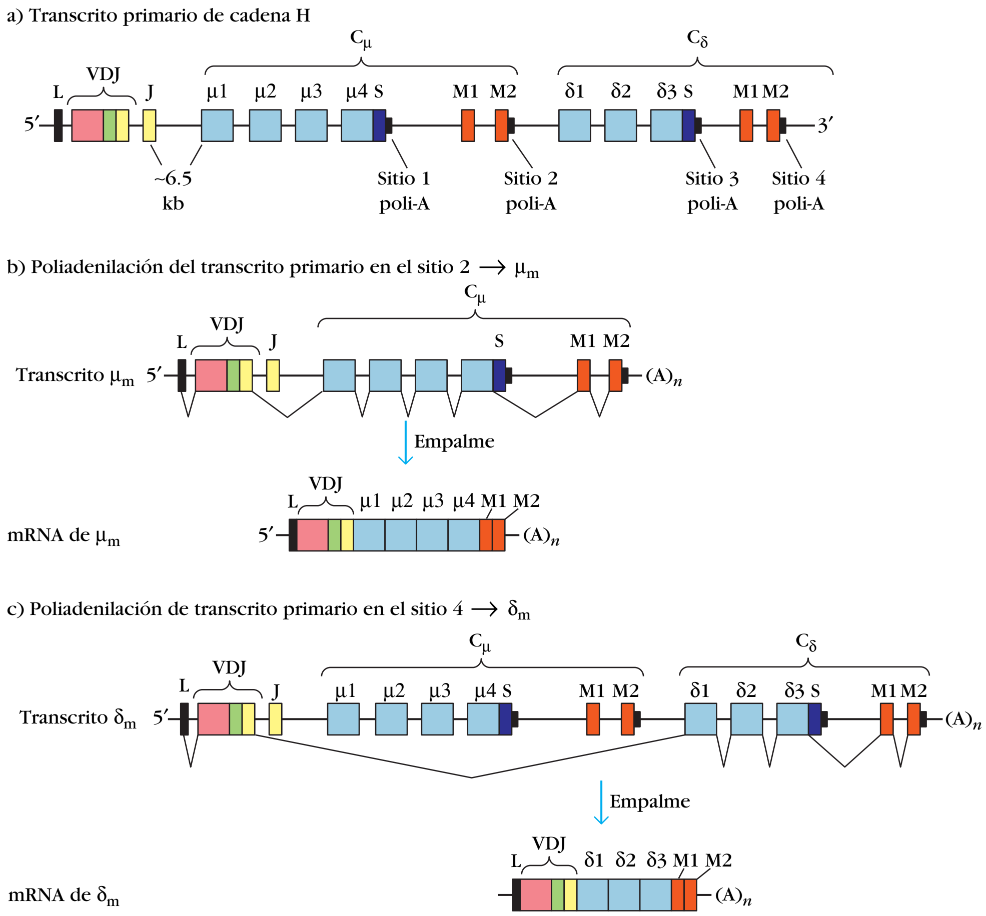

a) Transcrito primario de cadena H
Cμ
Cδ
VDJ
L
J
μ1
μ2
μ3
μ4
S
M1
M2
δ1
δ2
δ3
S
M1
M2
5′
3′
~6.5
kb
Sitio 1
poli-A
Sitio 2
poli-A
Sitio 3
poli-A
Sitio 4
poli-A
b) Poliadenilación del transcrito primario en el sitio 2 ⟶ μ_m
Cμ
VDJ
L
J
S
M1
M2
Transcrito μ_m
5′
$(A)_n$
Empalme
VDJ
L
μ1
μ2
μ3
μ4
M1
M2
mRNA de μ_m
5′
$(A)_n$
c) Poliadenilación de transcrito primario en el sitio 4 ⟶ δ_m
Cμ
Cδ
VDJ
L
J
μ1
μ2
μ3
μ4
S
M1
M2
δ1
δ2
δ3
S
M1
M2
Transcrito δ_m
5′
$(A)_n$
Empalme
VDJ
L
δ1
δ2
δ3
M1
M2
mRNA de δ_m
$(A)_n$

FIGURA 5-19 Expresión de las formas de membrana de cadenas pesadas μ y δ por procesamiento alternativo de RNA. a) Estructura del gen de cadena pesada reordenado que muestra exones C_μ y C_δ y sitios poli-A. b) Estructura del transcrito μ_m y del mRNA de μ_m que resulta de la poliadenilación en el sitio 2 y el empalme. c) Estructura del transcrito δ_m y del mRNA de δ_m creada por la poliadenilación en el sitio 4 y el empalme. Ambas vías de procesamiento pueden proseguir en cualquier célula B determinada.

Expresión simultánea de IgM e IgD

El procesamiento diferencial del RNA también sustenta la expresión simultánea de IgM e IgD unidas a membrana por células B maduras. Como se mencionó, la transcripción de genes de cadena pesada reordenados en células B maduras crea transcritos primarios que contienen segmentos génicos C_μ y C_δ. Estos últimos están cerca entre sí en el gen reordenado (separados sólo por unas 5 kb), y la ausencia de un sitio de cambio entre ellos posibilita que se transcriba toda la región $VDJC_\mu C_\delta$ en un transcrito de RNA primario único de unas 15 kb de largo, que contiene cuatro sitios poli-A (fig. 5-19). Los sitios uno y dos se vinculan con C_μ, como se describió en la sección previa; los sitios tres y cuatro se ubican en lugares similares en los segmentos génicos C_δ. Si se escinde y poliadenila el transcrito de cadena pesada en el sitio dos después de los exones C_μ, entonces el mRNA codifica la forma de membrana de la cadena pesada μ (fig. 5-19b); si en lugar de ello la poliadenilación ocurre corriente abajo en el sitio cuatro, después de los exones C_δ, entonces la superposición de RNA anula los exones C_μ intermedios y produce mRNA que codifica la forma de membrana de la cadena pesada δ (fig. 5-19c).

Debido a que la célula B madura expresa tanto IgM como IgD en su membrana, deben concurrir ambas vías de procesamiento de manera simultánea. Asimismo, la escisión y poliadenilación del transcrito de cadena pesada primario en el sitio poli-A uno o tres en células plasmáticas y la superposición ulterior dan lugar a la forma secretada de las cadenas pesadas μ o δ, respectivamente (fig. 5-18b).

Síntesis, ensamblaje y secreción de inmunoglobulinas

La producción de anticuerpos plantea problemas únicos relacionados con la variabilidad del producto y la cantidad que se genera. Un repertorio extraordinariamente diverso de anticuerpos resulta de los mecanismos de reordenamientos génicos, unión imprecisa de segmentos V(D)J, adición de nucleótidos a los extremos escindidos de estos segmentos y, en muchos casos, hipermutación somática, pero un subproducto costoso de toda esta variabilidad es la generación de una cantidad significativa de genes de anticuerpo que contienen codones de detención prematura o producen inmunoglobulinas que no se pliegan o ensamblan correctamente. Un segundo problema surge de la escala de producción de anticuerpo por células plasmáticas. Además de las proteínas requeridas para todas sus actividades metabólicas normales, las células plasmáticas elaboran y secretan más de 1 000 moléculas de anticuerpo por célula por segundo. El simple hecho de desplazar hasta la membrana plasmática para su descarga las vesículas intracelulares llenas de anticuerpo constituye un colosal desafío para el control y la coordinación del tráfico intracelular.

Como todas las proteínas destinadas a incorporarse en membranas o descargarse en el ambiente extracelular, los polipéptidos de inmunoglobulina se sintetizan en el retículo endoplásmico rugoso (RER). Los mRNA de las cadenas pesada y ligera de inmunoglobulina se trasladan en polirribosomas del RER separados (fig. 5-20). Las cadenas recién sintetizadas contienen una secuencia líder amino terminal, que guía las cadenas hacia la luz del RER, donde se escinde entonces la secuencia señal. El orden de ensamblaje de cadenas ligeras (L) y pesadas (H) varía entre las clases de inmunoglobulina. En el caso de la IgM, las cadenas H y L se ensamblan dentro del RER para formar medias moléculas, y a continuación se ensamblan dos medias moléculas para formar la molécula completa. En el caso de la IgG, se forman dos cadenas H, luego un H_2L intermedio, y finalmente se configura la molécula H_2L_2 completa. Enzimas presentes en el RER catalizan la formación de los enlaces disulfuro intercadena necesarios para ensamblar polipéptidos de inmunoglobulina, así como los enlaces S-S intracadena que aseguran el plegamiento de los dominios de Ig. La glucosilación de moléculas de anticuerpo también es tarea de enzimas del RER.

Los anticuerpos son enviados a sus destinos (ya sea secretado o unido a membrana) dependiendo de la presencia de dominios carboxilo terminales hidrófobos o hidrófilos en sus cadenas pesadas, que se mencionaron antes. Los anticuerpos unidos a membrana contienen la secuencia hidrófoba, que se ancla en la membrana de una vesícula secretoria. Cuando la vesícula se fusiona con la membrana plasmática, el anticuerpo toma residencia en esta última (fig. 5-20, recuadro superior). Los anticuerpos que contienen la secuencia hidrófila característica de las inmunoglobulinas secretadas se transportan como moléculas libres en vesículas secretorias y se liberan de la célula cuando dichas vesículas se fusionan con la membrana plasmática.

El ER tiene mecanismos de control de calidad (fig. 5-21), los cuales aseguran que sólo se exporten moléculas de anticuerpo completamente ensambladas y promueven la destrucción de moléculas de Ig incompletas o mal ensambladas. Un mediador de estas funciones es la proteína de unión a cadenas pesadas de inmunoglobulina (**BiP**, del inglés *immunoglobulin heavy chain* b*inding protein*), que se une a moléculas de anticuerpo que no se ensamblaron por completo pero se disocia de las completas. Una secuencia específica de aminoácidos en la BiP (lisina-glutamato-aspartato-leucina) causa su retención en el retículo endoplásmico, lo que impide que salgan del ER moléculas de anticuerpo incompletas a las cuales se ha unido. Las moléculas de anticuerpo mal plegadas o retenidas en el ER finalmente son marcadas para su destrucción cuando a ellas se une una proteína llamada ubicuitina. Las proteínas así marcadas son extraídas del núcleo y sometidas a proteólisis por proteosomas, grandes complejos multienzimáticos que se considerarán con mayor detalle en el capítulo 7.

Regulación de la transcripción de genes de inmunoglobulina

Los genes de inmunoglobulina sólo se expresan en células del linaje B, e incluso dentro de este linaje los genes se expresan en diferentes proporciones durante las distintas etapas del desarrollo. Tal y como se observa con otros genes eucarióticos, dos clases principales de secuencias reguladoras cis en el DNA controlan la transcripción de genes de inmunoglobulina:

- **Promotores:** secuencias de nucleótidos relativamente cortas, extendidas alrededor de 200 pb corriente arriba respecto del sitio de inicio de la transcripción, que promueven el comienzo de la transcripción de RNA en un sentido específico.

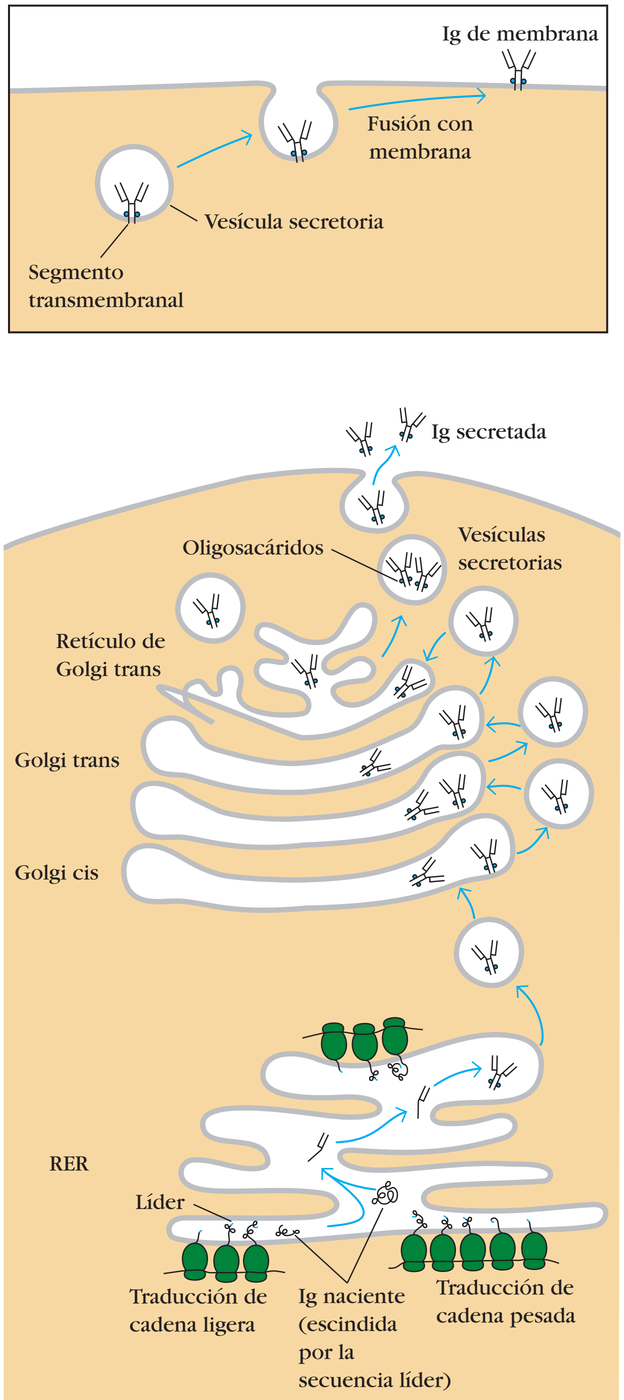

Ig de membrana
Fusión con membrana
Vesícula secretoria
Segmento transmembranal
Ig secretada
Oligosacáridos
Vesículas secretorias
Retículo de Golgi trans
Golgi trans
Golgi cis
RER
Líder
Traducción de cadena ligera
Ig naciente (escindida por la secuencia líder)
Traducción de cadena pesada

FIGURA 5-20 Síntesis, ensamblaje y secreción de la molécula de inmunoglobulina. Las cadenas pesada y ligera se sintetizan en polirribosomas (polisomas) separados. El ensamblaje de las cadenas, la formación de los enlaces disulfuro intracatenarios e intercatenarios y la adición de carbohidrato ocurren todos en el retículo endoplásmico rugoso (RER). El transporte vesicular lleva la Ig al aparato de Golgi, por el que transita, y se acumula en vesículas que se fusionan con la membrana celular. La figura principal muestra el ensamblaje de un anticuerpo secretado. El recuadro muestra un anticuerpo unido a membrana, que contiene el segmento carboxilo terminal transmembranal. Esta forma se fija en la membrana de vesículas secretorias y luego se inserta en la membrana de la célula cuando las vesículas se fusionan con la membrana.

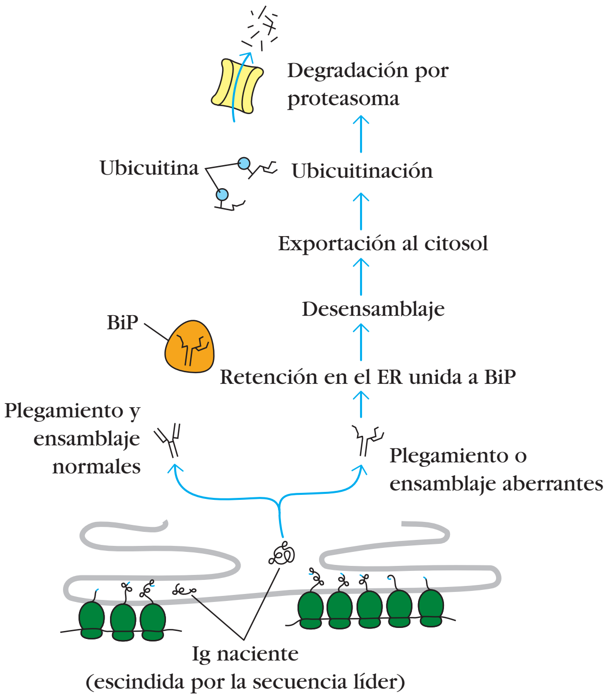

Degradación por proteasoma
Ubicuitina
Ubicuitinación
Exportación al citosol
Desensamblaje
BiP
Retención en el ER unida a BiP
Plegamiento y ensamblaje normales
Plegamiento o ensamblaje aberrantes
Ig naciente (escindida por la secuencia líder)

FIGURA 5-21 Control de calidad durante la síntesis de anticuerpo. Las moléculas de Ig que no se pliegan o ensamblan correctamente permanecen unidas a la proteína BiP (una carabina). La interacción con BiP y otros factores hace que el anticuerpo defectuoso se desensamble, exporte desde el ER y marque para su degradación por conjugación con ubicuitina, tras lo cual es degradado por proteasoma.

- **Intensificadores:** secuencias nucleotídicas situadas a cierta distancia corriente arriba o abajo de un gen que activan la transcripción de la secuencia promotora en una forma independiente de la orientación.

En la figura 5-22 se muestran las localizaciones de los elementos reguladores en el DNA de inmunoglobulina de la línea germinal. Todos estos elementos reguladores tienen agrupaciones de secuencia características que pueden unirse de manera específica a una o más proteínas nucleares.

Cada segmento génico V_H y V_L tiene un promotor localizado justo corriente arriba de la secuencia líder. Además, el agrupamiento J_κ y cada uno de los genes D_H del locus de cadena pesada son precedidos por promotores. Al igual que otros promotores, los de la inmunoglobulina poseen una secuencia rica en AT altamente conservada la cual recibe el nombre de secuencia (caja o vagón) TATA, que sirve como sitio para la unión de varias proteínas necesarias para el inicio de la transcripción del RNA. El proceso real de transcripción se lleva a cabo mediante la polimerasa II de RNA, que comienza a transcribir DNA desde el sitio de inicio, situado alrededor de 25 pb corriente abajo de la caja TATA. Los promotores de Ig también contienen un octámero esencial y conservado que confiere especificidad de célula B en el promotor. El octámero une dos factores de transcripción, oct-1, que se encuentra en muchos tipos de células, y oct-2, que sólo existe en células B.

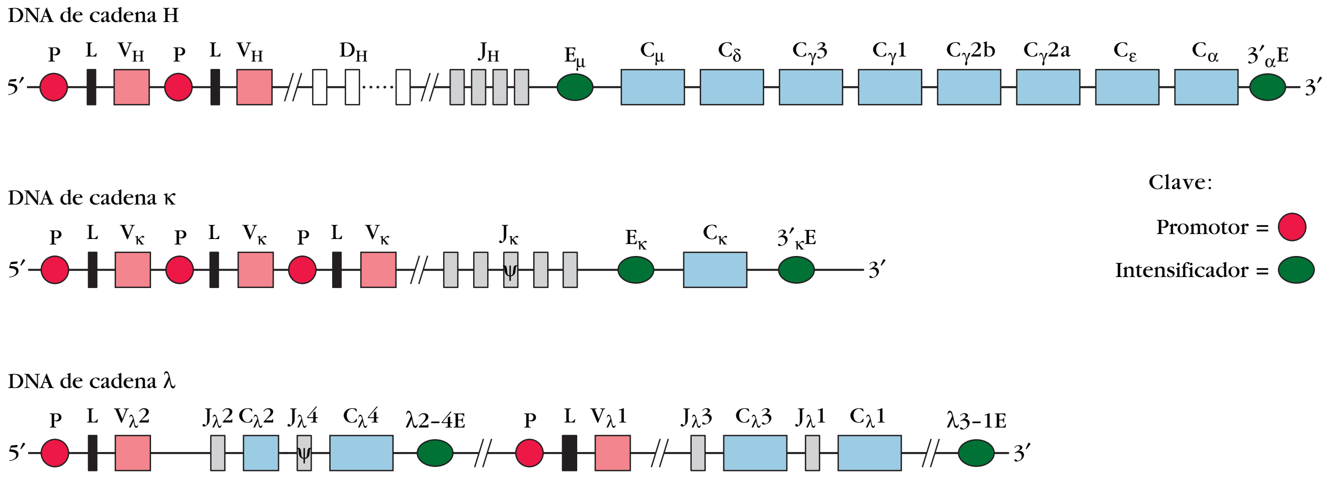


FIGURA 5-22 Localización de promotores (rojo oscuro) e intensificadores (verde) en DNA de línea germinal de cadena pesada, cadena ligera κ y cadena ligera λ de ratón. El reordenamiento del DNA de la región variable mueve un intensificador lo bastante cerca de un promotor para que el intensificador pueda activar la transcripción del promotor. En este diagrama se omitieron con fines de claridad los promotores que preceden al agrupamiento DH, varios de los genes C y el grupo J_λ.

Si bien aún queda mucho por aprender acerca de la función de los intensificadores, constituyen sitios de unión para varias proteínas, muchas de las cuales son factores de transcripción. Una función en particular importante la efectúan dos proteínas codificadas por el gen *E2A*; éstas pueden experimentar empalme alternado para generar dos proteínas colaboradoras, que se unen ambas a los intensificadores intrónicos μ y κ. Tales proteínas son esenciales para el desarrollo de la célula B; los ratones con desactivación de *E2A* producen cantidades normales de células T pero muestran ausencia total de células B. Como hecho interesante, la transfección de estas proteínas de unión intensificadoras dentro de una línea de células T dio por resultado un notable incremento de la transcripción de mRNA de cadena μ e indujo incluso a la célula T a experimentar reordenamiento $D_H + J_H \rightarrow D_HJ_H$.

Un intensificador de cadena pesada se localiza dentro del intrón, entre el último segmento génico J (3′) y el primer segmento C, C_μ (5′), que codifica la cadena pesada μ. Debido a que este intensificador de cadena pesada (E_μ) se ubica en sentido 5′ respecto del sitio de cambio S_μ cerca de C_μ, puede continuar funcionando después de que ocurre un cambio de clase. Se ha detectado otro intensificador de cadena pesada ($3'_\alpha E$) en sentido 3′ respecto del segmento génico C_α. Un intensificador de cadena ligera κ (E_κ) se sitúa entre el segmento J_κ y el segmento C_κ, y otro intensificador ($3'_\kappa E$) se localiza en sentido 3′ del segmento C_κ. Los intensificadores de cadena ligera λ se hallan en sentido 3′ de $C_\lambda 4$ y 3′ de $C_\lambda 1$.

El reordenamiento del DNA acelera en gran medida la transcripción

Los promotores vinculados con segmentos génicos V de la inmunoglobulina unen polimerasa II de RNA muy débilmente, y los intensificadores de la región variable en el DNA de la línea germinal están muy distantes de los promotores (alrededor de 250 a 300 kb), demasiado alejados para influir de manera significativa en la transcripción. Por ello es insignificante el índice de transcripción de las regiones codificadoras de V_H y V_L en el DNA de la línea germinal no reordenado. El reordenamiento génico de la región variable coloca un promotor y un intensificador a 2 kb uno del otro, lo bastante cerca para que el intensificador modifique la transcripción del promotor cercano. Como resultado, la intensidad de transcripción de una unidad V_LJ_L o $V_HD_HJ_H$ reordenada es hasta de 10^4 veces la de segmentos V_L o V_H no reordenados. Este efecto se demostró de forma directa en un estudio en el cual las células B transfectadas con genes de cadena pesada reordenados, de los cuales se había eliminado el intensificador, no transcribieron los genes, en tanto que las células B transfectadas con genes similares que contenían el intensificador transcribieron los genes transfectados con gran rapidez. Estos resultados destacan la importancia de los intensificadores en la transcripción normal de los genes de inmunoglobulina.

Los genes que regulan la proliferación celular o impiden la muerte de las células algunas veces se transponen hacia los loci de las cadenas pesadas o ligeras de la inmunoglobulina. Aquí, bajo la influencia de un intensificador de inmunoglobulina, es elevada en grado significativo la expresión de estos genes y tiene como consecuencia altos valores de proteínas que promueven la proliferación o inhiben la muerte celular. Las transposiciones de los oncogenes c-*myc* y *bcl-2* se han relacionado cada una con linfomas malignos de célula B. La transposición de c-*myc* conduce a la expresión constitutiva de c-Myc y a un linfoma de células B agresivo, muy proliferativo, llamado linfoma de Burkitt. La transposición de *bcl-2* suspende la muerte celular programada en células B y da lugar al linfoma folicular de células B. Estas transposiciones que promueven la aparición del cáncer se comentan con mayor detalle en el capítulo 21.

En las células T está inhibida la expresión de los genes de inmunoglobulina

Como se comentó, la mutación específica de sitio en las células B tiene un paralelismo en las células T. El DNA de la línea germinal que codifica el receptor de célula T (TCR) experimenta un reordenamiento V(D)J para crear genes TCR funcionales. El reordenamiento del DNA de la línea germinal de la inmunoglobulina y del TCR ocurre por procesos de recombinación similares mediados por RAG-1 y RAG-2 e incluye secuencias señal de recombinación con espaciadores de uno o dos giros (fig. 5-7). A pesar de la similitud de los procesos, el reordenamiento completo de las cadenas H y L de los genes de Ig sólo ocurre en células B, y el reordenamiento completo del gen de TCR se limita a células T.

Hitoshi Sakano y colaboradores obtuvieron resultados que sugieren que una secuencia dentro de los intensificadores 3′ de la cadena κ ($3'_{\kappa}E$) sirve para regular la unión de V_{κ} a J_{κ} en células B y T. Cuando se mutó una secuencia conocida como sitio de unión PU.1 dentro del intensificador 3′ de la cadena κ, estos investigadores encontraron que tuvo lugar la unión V_{κ}-J_{κ} en células T y asimismo en células B. Propusieron que la unión de una proteína expresada por células T (pero no por células B) al intensificador de la cadena κ no mutada previene en condiciones normales la unión V_{κ}-J_{κ} en células T. Aún es necesario determinar la identidad de esta proteína de unión de DNA en células T. Procesos similares pueden prevenir el reordenamiento del DNA de cadena pesada y de cadena λ en células T.

Genes de anticuerpos e ingeniería de anticuerpos

En muchas aplicaciones clínicas podría ser útil la extraordinaria especificidad de un anticuerpo monoclonal de ratón. Sin embargo, cuando se introducen anticuerpos monoclonales de ratón en seres humanos son reconocidos como extraños y precipitan una respuesta de anticuerpo antimurino humano (HAMA, del inglés h*uman* a*nti*m*ouse* a*ntibody*) que elimina con rapidez del torrente sanguíneo el anticuerpo monoclonal murino. Los complejos circulantes de anticuerpos murinos y humanos pueden causar reacciones alérgicas, y en algunos casos la acumulación de estos complejos en órganos como los riñones ocasiona reacciones graves e incluso letales. Es claro que un modo de evitar estas reacciones indeseables consiste en utilizar anticuerpos monoclonales humanos para aplicaciones clínicas. No obstante, el uso de tecnología de hibridomas para elaborar anticuerpos monoclonales humanos se ha visto plagada de múltiples problemas técnicos, y la generación de hibridomas que secreten anticuerpos humanos sigue siendo un gran desafío. Para vencer estas dificultades se han desarrollado métodos alternativos de ingeniería de anticuerpos en que se usa tecnología de DNA recombinante.

El conocimiento de las secuencias de los genes de anticuerpo y la estructura de los anticuerpos se ha unido con técnicas de biología molecular para hacer posible lo que Cesar Milstein, uno de los inventores de la tecnología de anticuerpo monoclonal, denominó “anticuerpos artificiales”. Hoy en día es posible diseñar y construir genes que codifican moléculas de inmunoglobulina en las cuales las regiones variables provienen de una especie, como el ratón, y las regiones constantes provienen de otra especie, como el ser humano. Se han creado nuevos genes que unen secuencias nucleotídicas codificadoras de proteínas que no son anticuerpos con secuencias que codifican regiones variables de anticuerpo específicas para antígenos particulares. Estos híbridos moleculares, o **quimeras**, pueden llevar toxinas potentes a blancos antigénicos particulares, como las células tumorales. Al capturar una muestra significativa de todos los genes de la región variable de cadenas pesadas y ligeras de la inmunoglobulina mediante la incorporación en bibliotecas de bacteriófagos, se han logrado reconstrucciones notables y útiles de la totalidad de los repertorios de anticuerpos de individuos. (En las siguientes secciones se describe cada uno de estos tipos de ingeniería genética de anticuerpos.) Por último, al reemplazar los loci de inmunoglobulina de una especie por los de otra, se ha dotado a los animales de una especie, como el ratón o la vaca, de la capacidad de responder a inmunizaciones elaborando anticuerpos codificados por los genes de Ig del donante trasplantados por medios genéticos desde seres humanos.

Los anticuerpos monoclonales quiméricos y humanizados poseen un gran potencial clínico

Un método para la ingeniería de anticuerpos consiste en clonar DNA recombinante que contiene las secuencias promotora, líder y de región variable de un gen de anticuerpo de ratón y los exones de región constante de un gen de anticuerpo humano (fig. 5-23). El anticuerpo codificado por este gen recombinante es una quimera de ratón y ser humano que se conoce habitualmente como **anticuerpo quimérico**. Su especificidad antigénica, que depende de la región variable, deriva del DNA de ratón; su isotipo, determinado por la región constante, procede del DNA humano. Debido a que los genes humanos codifican las regiones constantes de estos anticuerpos quiméricos, los anticuerpos poseen menos determinantes antigénicos de ratón y son mucho menos inmunógenos cuando se administran a personas que los anticuerpos monoclonales murinos (fig. 5-23a). Uno de estos anticuerpos quiméricos humano y de ratón se empleó para el tratamiento de pacientes con variedades del linfoma no Hodgkin de células B (véase el enfoque clínico). Sin embargo, dado que las regiones enteras V_H y V_L del ratón se retienen en los anticuerpos quiméricos, contienen cantidades significativas de la secuencia de Ig murina, lo que puede causar respuestas HAMA. Por fortuna, es posible diseñar anticuerpos en los cuales toda la secuencia es humana excepto las CDR, que se toman de anticuerpo monoclonal murino con la especificidad de antígeno deseada. Estos **anticuerpos humanizados** se esquematizan en la figura 5-23b. Los anticuerpos humanizados retienen las funciones efectoras biológicas del anticuerpo humano y son más eficaces que los anticuerpos murinos para desencadenar la activación del complemento y los procesos mediador por receptor Fc en seres humanos, como la fagocitosis. Sin embargo, son menos inmunógenos en el ser humano que los anticuerpos quiméricos murino-humano. Los anticuerpos monoclonales quiméricos también pueden adaptarse para que actúen como inmunotoxinas. Por ejemplo, el dominio de región constante terminal de un anticuerpo específico de tumor puede hacerse altamente radiactivo por conjugación con una marca radiactiva como itrio 90, o puede sustituirse por una toxina (o conjugarse con ella) como la diftérica (fig. 5-23c). Estas inmunotoxinas se seleccionan por su capacidad de unirse a células tumorales, lo cual las hace altamente específicas como reactivos terapéuticos.

Los **heteroconjugados**, o **anticuerpos biespecíficos**, son híbridos de dos moléculas de anticuerpo diferentes (fig. 5-23d). Pueden formarse mediante el enlace cruzado químico de dos diferentes anticuerpos o al sintetizarlos en hibridomas que

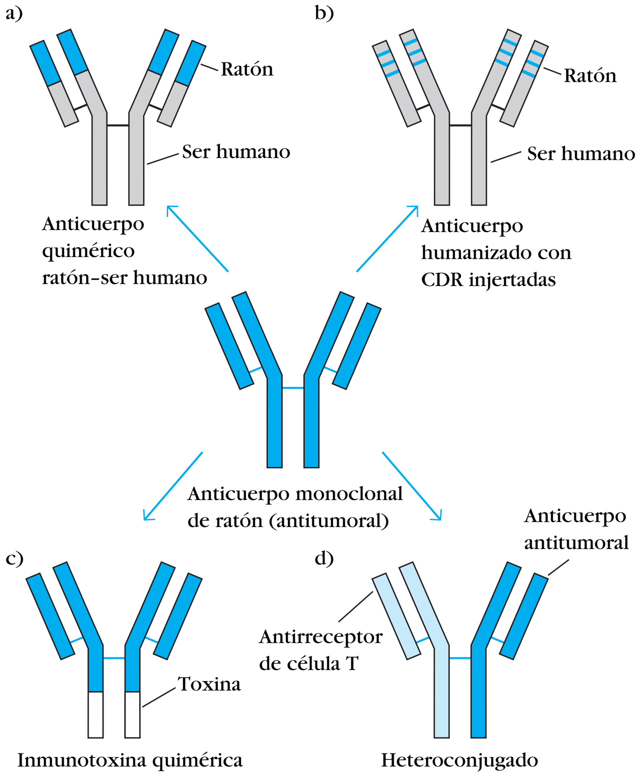

a)
Ratón
Ser humano
Anticuerpo quimérico ratón-ser humano
b)
Ratón
Ser humano
Anticuerpo humanizado con CDR injertadas
Anticuerpo monoclonal de ratón (antitumoral)
c)
Toxina
Inmunotoxina quimérica
d)
Antirreceptor de célula T
Anticuerpo antitumoral
Heteroconjugado

FIGURA 5-23 Ingeniería de anticuerpos mediante tecnología de DNA recombinante. a) Anticuerpo monoclonal quimérico ratón-ser humano que contiene los dominios V_H y V_L de un anticuerpo monoclonal de ratón (azul) y los dominios C_L y C_H de un anticuerpo monoclonal humano (gris). b) Un anticuerpo monoclonal humanizado que sólo contiene las CDR de un anticuerpo monoclonal de ratón (bandas azules) injertadas dentro de las regiones armazón de un anticuerpo monoclonal humano. c) Anticuerpo monoclonal quimérico en el cual se reemplaza el dominio Fc terminal por cadenas de toxina (blanco). d) Heteroconjugado en el que la mitad de la molécula de anticuerpo de ratón es específica para un antígeno de tumor y la otra mitad es específica para el complejo CD3/receptor de célula T.

poseen dos líneas celulares fusionadas diferentes que crean anticuerpo monoclonal. Estos dos métodos generan mezclas de anticuerpos monoespecíficos y biespecíficos, de los cuales debe purificarse la molécula biespecífica deseada. Un método más simple y elegante consiste en usar ingeniería genética para construir genes que codifiquen moléculas sólo con las dos especificidades deseadas. Se han diseñado varias moléculas biespecíficas en las cuales una mitad del anticuerpo tiene especificidad para una célula tumoral y la otra mitad la tiene para una molécula de superficie en una célula efectora inmunitaria, por ejemplo una célula NK o un linfocito T citotóxico (CTL), de modo que promueve la destrucción de la célula tumoral por la célula efectora.

Se han creado ratones con loci de inmunoglobulina humana

Por medio de tecnología de desactivación génica es posible anular la capacidad de un ratón de reordenar sus loci de cadenas pesada y ligera de la línea germinal. Estos ratones desactivados no producen Ig, y dado que el desarrollo de células B requiere la generación de inmunoglobulina μ funcional, los animales tampoco generan células B. Sin embargo, la capacidad de producir células B y anticuerpo puede restablecerse mediante la introducción de loci funcionales para Ig de la línea germinal murina en líneas de ratones con desactivación de los genes para Ig. Algunos investigadores ingeniosos han mostrado que también la introducción de porciones de loci H y L de la línea germinal humana puede restablecer el desarrollo de células B, y da por resultado ratones que producen anticuerpos humanos. Sin embargo, los loci Ig de la línea germinal completos son tramos muy largos de DNA (el locus H humano tiene 1.5 Mb, y el λ humano tiene 1 Mb), y algunas dificultades técnicas impiden la introducción de los loci H y L humanos enteros en ratones. Sólo podrían introducirse segmentos parciales de los loci, y en consecuencia no todos los elementos de estos loci grandes y complejos pueden expresarse. Un nuevo enfoque para abordar este problema surgió cuando Isao Ishida y sus colegas en la empresa farmacéutica Kirin, de Japón generaron un cromosoma humano artificial (HAC) que porta los loci humanos completos de las cadenas pesada y λ. Después introdujeron el HAC en células madre embrionarias derivadas de ratones con desactivación de las cadenas H y L, y usaron las células transgénicas HAC para obtener líneas de ratones transgénicos que reaccionaban a la inoculación de antígeno produciendo anticuerpos *humanos* específicos de antígeno (fig. 5-24). La inmunización de estos ratones transgénicos HAC con albúmina sérica humana indujo una respuesta consistente en anticuerpos humanos contra esa albúmina.

Uno de los puntos fuertes de este método, así como de otros enfoques para trasplantar loci humanos de Ig de la línea germinal en ratones, es que estos anticuerpos completamente humanos son producidos en células del linaje de los linfocitos B murinos, a partir de los cuales es fácil obtener por fusión celular hibridomas secretores de anticuerpo. Por tanto, este método ofrece una solución al problema de producir anticuerpos monoclonales humanos de cualquier especificidad deseada. Una ventaja única adicional del enfoque HAC es la facilidad con que puede usarse para transferir loci de inmunoglobulina humanos completos a especies distintas del ratón. En fechas recientes se ha demostrado que bovinos transgénicos HAC clonados producen anticuerpos policlonales humanos. Dado que los bovinos tienen grandes volúmenes de sangre (unos 60 litros), la recolección de su suero tiene el potencial de producir grandes cantidades de anticuerpos policlonales humanos. Como se expone en el enfoque clínico del capítulo 4, los anticuerpos policlonales humanos tienen un papel importante y creciente en la prevención y el tratamiento de enfermedades, y las estrategias para producirlos en huéspedes no humanos de manera económica y a gran escala revisten considerable interés biomédico.

Las bibliotecas de exhibición en fago permiten producir anticuerpos monoclonales sin necesidad de inmunización

Otro método para generar anticuerpos monoclonales evita por completo la tecnología de hibridoma. Comenzando con una población de células B, se aíslan segmentos génicos para los dominios reordenados V_H y V_L de los anticuerpos de células B. El resultado es una biblioteca extensa y diversa de genes para V_H y V_L que representa el repertorio de genes V reordenados presentes en la fuente de la población de células B. Estos genes para V_H y V_L se unen entonces entre sí, junto con una secuencia peptídica de unión intermedia, para generar un conjunto de genes que codifican polipéptidos llamados unidades variables de fragmentos de cadena sencilla (scFv) (fig. 5-25a). En cada unidad scFv, un dominio V_H se parea con uno V_L para crear una unidad de unión a antígeno mínima. Cuando se construyen scFv para la creación de una biblioteca de fagos, cualquier gen V_L puede unirse con cualquier gen V_H, con lo que se crea una enorme diversidad de especificidades de anticuerpo; se han obtenido bibliotecas fágicas que contienen más de 10^{11} miembros únicos. Este nivel de diversidad es comparable al repertorio humano in vivo, y tales bibliotecas altamente diversas contienen sitios de unión a anticuerpo específicas para una gama extraordinariamente amplia de antígenos.

Un protocolo denominado **tecnología de exhibición en fago** (fig. 5-25b) hace posible dominar el poder de una gran biblioteca de genes para unidades scFv. Los fagos (abreviatura de bacteriófagos) son virus bacterianos que constan de un genoma y una cubierta proteínica. Mediante ingeniería genética se unen genes que codifican unidades scFv con el gen que codifica una de las proteínas de cubierta expresadas en la superficie del fago. El fago genéticamente transformado produce entonces proteínas de cubierta modificadas que exhiben la unidad scFv (dominios V_H y V_L unidos por un péptido) en la superficie fágica. Mediante clonación en fagos es posible capturar repertorios muy grandes (10^6 a 10^9 sitios de unión a anticuerpo distintos) de genes scFv, con lo que se produce una biblioteca de exhibición en fago.

Las poblaciones de fagos se amplifican introduciendo éstos en *E. coli*. Después es posible buscar especificidad en la progenie de fagos incubando la biblioteca con un antígeno inmovilizado. Los fagos que no fijan antígeno son barridos por lavado, mientras que permanecen los que expresan unidades scFv que se unen de manera específica al antígeno, así como algunos fagos que se unen a la placa de manera inespecífica. Para enriquecer aún más la población de fago específico de antígeno, se repite la infección de *E. coli* con fagos recuperados, a lo que siguen ciclos ulteriores de selección. Repitiendo los procesos de cultivo, selección antigénica y cosecha, es posible aislar incluso un fago entre 10^9 fagos específicos de antígeno.

Una vez que se identifican fagos portadores de sitios de unión deseables, es posible usar técnicas de ingeniería genética para recuperar las regiones codificadoras de V_H y V_L a partir del genoma fágico, las cuales se injertan entonces en los genes

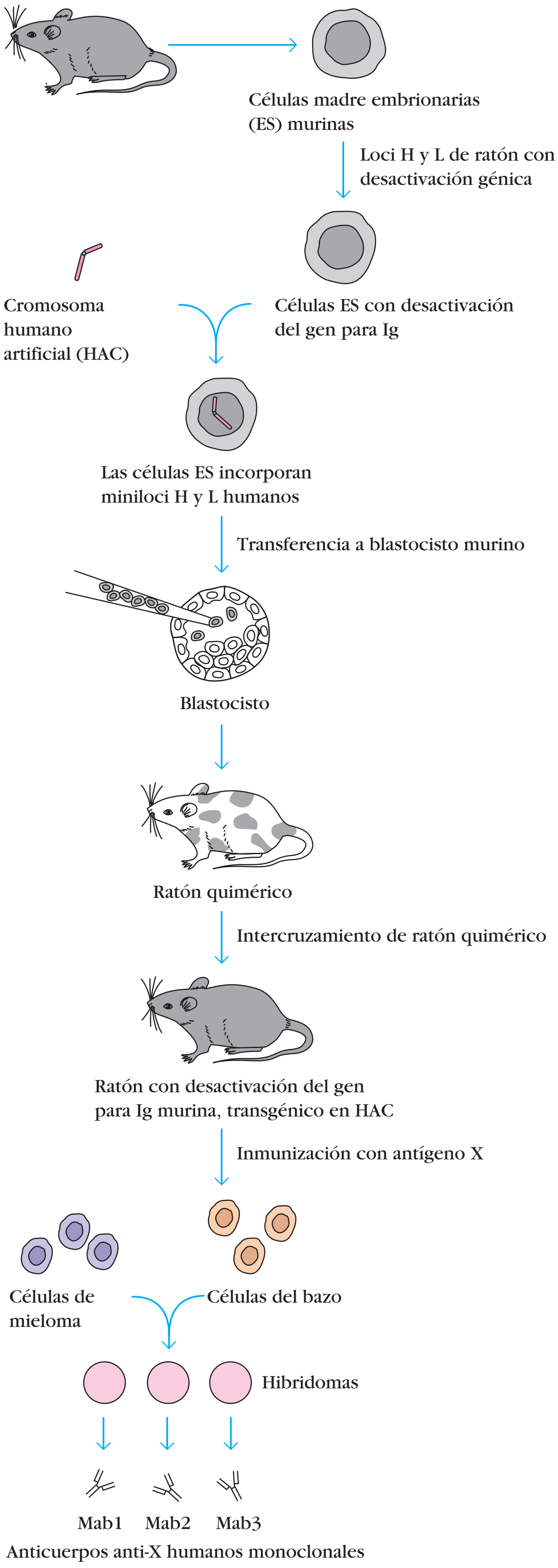

Células madre embrionarias (ES) murinas
Loci H y L de ratón con desactivación génica
Cromosoma humano artificial (HAC)
Células ES con desactivación del gen para Ig
Las células ES incorporan miniloci H y L humanos
Transferencia a blastocisto murino
Blastocisto
Ratón quimérico
Intercruzamiento de ratón quimérico
Ratón con desactivación del gen para Ig murina, transgénico en HAC
Inmunización con antígeno X
Células de mieloma
Células del bazo
Hibridomas
Mab1
Mab2
Mab3
Anticuerpos anti-X humanos monoclonales

FIGURA 5-24 Producción de anticuerpo humano por ratones que portan un cromosoma humano artificial (HAC) que incluye loci completos de cadenas pesada y ligera humanas. Un cromosoma humano artificial portador de los loci completos no reordenados de cadenas pesada y ligera λ humanas se introdujo en células madre embrionarias (ES) de ratón, donde los loci de cadenas pesadas y ligeras κ y λ habían sido desactivados. Las células ES modificadas se introdujeron en blastocistos, los cuales se transfirieron a madres sustitutas y se les permitió generar ratones quiméricos. El intercruzamiento de los ratones quiméricos produjo individuos que producían anticuerpos humanos pero no Ig murina. La inmunización de estos ratones permitió la generación de antisuero específico de antígeno que sólo contenía anticuerpos humanos, o la generación de hibridomas que secretaban anticuerpos monoclonales humanos específicos de antígeno.

que codifican las regiones constantes de las cadenas pesadas y ligeras de inmunoglobulina. Cuando los genes para cadenas pesadas y ligeras modificados por ingeniería genética se expresan en células, se produce un anticuerpo monoclonal específico para el antígeno deseado. Por tanto, es posible evitar por completo la inmunización y producir un anticuerpo útil sin recurrir a la tecnología de hibridomas. Además, si la biblioteca de fagos se produce usando linfocitos B humanos como fuente de V_H y V_L y estos fragmentos se injertan en regiones constantes H e I humanas, el anticuerpo producido es del todo humano. De hecho, esta tecnología se ha empleado con éxito para generar un anticuerpo monoclonal humano contra la citocina inflamatoria TNF-α. Dicho anticuerpo fue aprobado por la FDA y ahora es de uso clínico para el tratamiento de la artritis reumatoide.

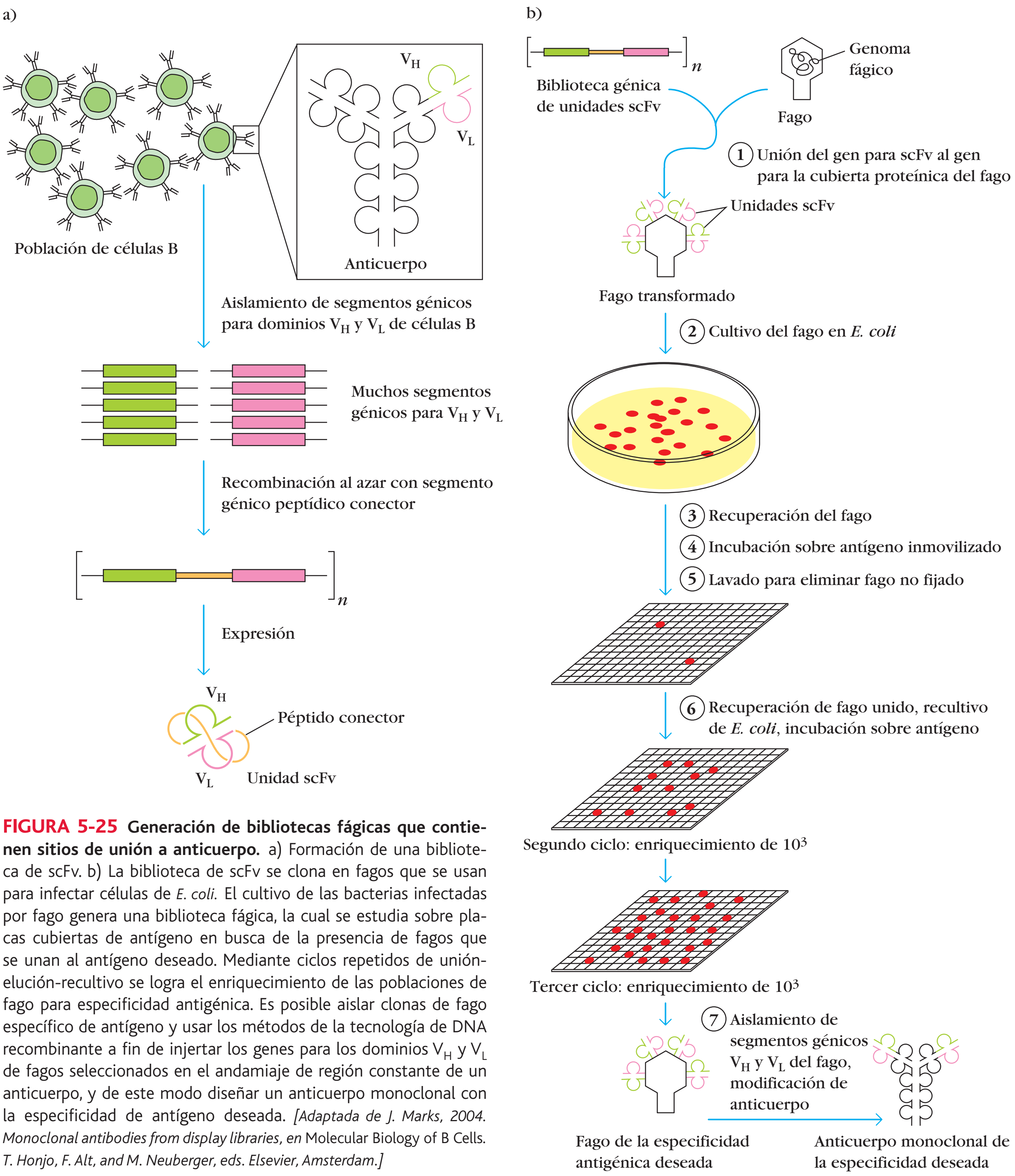

a)
V_H
V_L
Población de células B
Anticuerpo
Aislamiento de segmentos génicos para dominios V_H y V_L de células B
Muchos segmentos génicos para V_H y V_L
Recombinación al azar con segmento génico peptídico conector
n
Expresión
V_H
Péptido conector
V_L
Unidad scFv
b)
n
Biblioteca génica de unidades scFv
Genoma fágico
Fago
① Unión del gen para scFv al gen para la cubierta proteínica del fago
Unidades scFv
Fago transformado
② Cultivo del fago en *E. coli*
③ Recuperación del fago
④ Incubación sobre antígeno inmovilizado
⑤ Lavado para eliminar fago no fijado
⑥ Recuperación de fago unido, recultivo de *E. coli*, incubación sobre antígeno
Segundo ciclo: enriquecimiento de 10^3
Tercer ciclo: enriquecimiento de 10^3
⑦ Aislamiento de segmentos génicos V_H y V_L del fago, modificación de anticuerpo
Fago de la especificidad antigénica deseada
Anticuerpo monoclonal de la especificidad deseada

FIGURA 5-25 Generación de bibliotecas fágicas que contienen sitios de unión a anticuerpo. a) Formación de una biblioteca de scFv. b) La biblioteca de scFv se clona en fagos que se usan para infectar células de *E. coli*. El cultivo de las bacterias infectadas por fago genera una biblioteca fágica, la cual se estudia sobre placas cubiertas de antígeno en busca de la presencia de fagos que se unan al antígeno deseado. Mediante ciclos repetidos de unión-elución-recultivo se logra el enriquecimiento de las poblaciones de fago para especificidad antigénica. Es posible aislar clonas de fago específico de antígeno y usar los métodos de la tecnología de DNA recombinante a fin de injertar los genes para los dominios V_H y V_L de fagos seleccionados en el andamiaje de región constante de un anticuerpo, y de este modo diseñar un anticuerpo monoclonal con la especificidad de antígeno deseada. *[Adaptada de J. Marks, 2004. Monoclonal antibodies from display libraries, en* Molecular Biology of B Cells. *T. Honjo, F. Alt, and M. Neuberger, eds. Elsevier, Amsterdam.]*

ENFOQUE CLÍNICO

Terapéutica del linfoma no Hodgkin y otras enfermedades mediante anticuerpos elaborados por ingeniería genética

Los linfomas son cánceres del tejido linfático en los que las células tumorales tienen un origen linfocítico. Existen dos formas principales de linfomas: Hodgkin y no Hodgkin. La forma menos común es el linfoma de Hodgkin, llamado así en honor de su descubridor, Thomas Hodgkin, un médico inglés. Este anatomopatólogo excepcionalmente dotado, que trabajó sin los beneficios de un microscopio, identificó este padecimiento en varios pacientes y describió por primera vez las características anatómicas de la enfermedad en 1832. Puesto que muchos especímenes de tejidos obtenidos de pacientes con afección de Hodgkin que se sospechaba que padecían la enfermedad se conservaron en el *Gordon Museum of Guy's Hospital* en Londres, fue posible que las generaciones posteriores juzgaran la precisión de sus diagnósticos. Hodgkin razonó con certeza. Estudios de estos tejidos preservados confirman que estuvo acertado en alrededor de 60% de los casos, un logro sorprendente si se toma en cuenta la tecnología de esa época. En la actualidad, casi todos los linfomas son de tipo no Hodgkin e incluyen alrededor de 10 variedades diferentes de la enfermedad. Los linfomas de células B son una fracción importante de ellos.

Durante algunos años, los principales tratamientos contra los linfomas han consistido en radiación, quimioterapia o una combinación de ambos. Si bien estas terapias benefician a un gran número de pacientes, con incremento de la supervivencia, son comunes las recaídas después del tratamiento y muchos enfermos tratados experimentan efectos secundarios debilitantes. Los efectos secundarios son una consecuencia esperada de estas terapéuticas porque destruyen o dañan gravemente una amplia gama de células normales y tumorales. Una de las grandes esperanzas de la terapia del cáncer es el descubrimiento de tratamientos que sólo afecten células tumorales sin lesionar las normales. Si los tipos particulares de células cancerosas tuvieran antígenos que fueran específicos de tumor, estos antígenos serían los blancos ideales para un combate inmunitario. Por desgracia se conocen muy pocas de esas moléculas. Sin embargo, se han reconocido varios antígenos que se restringen al linaje celular en el cual se origina el tumor y que se expresan en las células tumorales.

Se han identificado muchos antígenos específicos de linaje celular para linfocitos B y linfomas B, incluida la inmunoglobulina, la característica distintiva de la célula B, y CD20, una fosfoproteína unida a membrana. La CD20 ha surgido como un candidato atractivo para la inmunoterapia mediada por anticuerpo porque se encuentra en linfomas B y el enlace cruzado mediado por anticuerpo no la disminuye ni internaliza. De hecho, hace algunos años se elaboraron anticuerpos monoclonales de ratón contra CD20 y uno de ellos formó la base para la inmunoterapia antilinfoma de células B. Al parecer, este método ya está listo para ocupar un sitio como coadyuvante o alternativa de la radiación y la quimioterapia. El desarrollo de este anticuerpo antitumoral es un excelente estudio de casos de la aplicación combinada de la información inmunológica y la biología molecular para diseñar un agente terapéutico novedoso.

El anticuerpo anti-CD20 original era un anticuerpo monoclonal de ratón con cadenas pesadas γ y cadenas ligeras κ murinas. Mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se amplificaron las secuencias de DNA de las regiones variables de las cadenas ligeras y pesadas de este anticuerpo. A continuación se creó un gen quimérico al sustituir las secuencias génicas de CDR de una cadena pesada humana $\gamma 1$ con las de la cadena pesada murina. En una maniobra similar, se ligaron las CDR murinas κ en un gen κ humano. Luego los genes quiméricos creados se incorporaron en vectores que permitieron valores altos de expresión en células de mamíferos. Cuando se cotransfectó una línea celular apropiada con estos dos productos, se produjeron anticuerpos quiméricos que contenían CDR de origen murino junto con armazones de región variable y regiones constantes humanas. Después de purificarlo, se valoró la actividad biológica del anticuerpo, primero in vitro y a continuación en un modelo de primate. Los resultados iniciales fueron muy alentadores. La región constante humana injertada apoyó las funciones efectoras como la lisis mediada por complemento o la citotoxicidad mediada por células dependientes de anticuerpo de células linfoides B humanas. Más aún, las inyecciones semanales del anticuerpo en monos dieron por resultado la reducción rápida y sostenida de células B de sangre periférica, ganglios linfáticos e incluso médula ósea. Cuando se suspendieron las infusiones de anticuerpo anti-CD20, la diferenciación de nuevas células B de poblaciones progenitoras permitió que se recuperaran al final poblaciones de célula B y se alcanzaran valores normales. A partir de estos resultados, aumentó la esperanza de que este anticuerpo quimérico inmunológicamente activo pudiera utilizarse para eliminar del cuerpo poblaciones completas de células B, incluidas las células B de linfoma, de un modo que respete otras poblaciones celulares. Esto llevó a estudiar el anticuerpo en pacientes humanos.

Los estudios clínicos en personas incluyeron a enfermos con linfoma de células B que habían recaído después de la quimioterapia o el tratamiento con radiación. Estas investigaciones se enfocaron en tres aspectos importantes: eficacia, seguridad e inmunogenicidad. Si bien no todos los individuos reaccionaron a la terapéutica con anti-CD20, casi 50% de ellos mostró una remisión completa o parcial. Por consiguiente, se demostró la eficacia, ya que este grado de respuesta es comparable a la tasa de éxitos con métodos tradicionales en los que se utilizan fármacos citotóxicos o radiación, lo que representa un tratamiento en verdad alternativo. En algunos sujetos se observaron efectos secundarios como náuseas, presión arterial baja y disnea (por lo general durante el inicio del tratamiento o poco después de comenzarlo); en su mayor parte, no fueron importantes ni pusieron en peligro la vida. En consecuencia, el tratamiento con el anti-CD20 quimérico es al parecer seguro. Los pacientes se observaron muy de cerca en busca de la aparición de respuestas de anticuerpos humanos anti-Ig de ratón (HAMA) y anticuerpo humano antiquimérico (HACA). No se advirtieron estas reacciones. Por lo tanto, el anticuerpo no era inmunógeno. La ausencia de estas respuestas demostró que los anticuerpos pueden manipularse con ingeniería genética para minimizar o incluso evitar reacciones inmunitarias indeseables. Otra razón para humanizar anticuerpos murinos es la vida media muy corta (unas cuantas horas) de los anticuerpos IgG de ratón en seres humanos en comparación con la vida media de tres semanas de sus equivalentes humanos o humanizados.

La ingeniería de anticuerpos ha contribuido asimismo al tratamiento de otras afecciones malignas como cáncer de mama, que se diagnostica en más de 180 000 mujeres estadounidenses cada año. Un poco más de la cuarta parte del total de pacientes con cáncer mamario padece cánceres que expresan exceso de un receptor de factor de crecimiento denominado HER2 (receptor 2 de factor de crecimiento epidérmico humano). Muchos tumores que expresan en exceso HER2 crecen con mayor rapidez y representan una amenaza más grave que los que evidencian valores normales de esta proteína en su superficie. Se crea mediante ingeniería genética un anticuerpo monoclonal anti-HER2 quimérico en el que, con excepción de las CDR, todas las proteínas son de origen humano. De modo específico, se tomaron secuencias de DNA para las CDR de cadenas pesadas y ligeras de genes de ratón clonados que codificaban un anticuerpo monoclonal anti-HER2. Al igual que en la estrategia anti-CD20 antes descrita, se utilizó cada uno de los segmentos génicos de CDR del ratón para reemplazar segmentos génicos de CDR humano correspondientes en genes del ser humano que codificaban la cadena pesada de IgG_1 y la cadena ligera κ humanas. Cuando este anticuerpo se emplea combinado con un fármaco quimioterápico, es muy eficaz contra el cáncer de mama metastásico. Se compararon los efectos en sujetos que sólo recibieron un medicamento quimioterápico con los de personas en quienes se usaron este último y el anticuerpo anti-HER2 modificado. La combinación del tratamiento anti-HER2/quimioterapia demostró tasas significativamente reducidas de progresión del tumor, un porcentaje más alto de pacientes que respondieron y una tasa de supervivencia a un año más alta. El tratamiento con trastuzumab, como se denomina a este anticuerpo monoclonal de diseño, se convirtió ya en parte del repertorio estándar de los tratamientos para el cáncer de mama.

El desarrollo de anticuerpos monoclonales de diseño y métodos ordinarios es una de las áreas más activas en la industria farmacéutica. El cuadro adjunto es una recopilación parcial de los anticuerpos monoclonales aprobados por la Food and Drug Administration (FDA) para utilizarse en el tratamiento de la enfermedad en seres humanos. Muchos más progresos se encuentran en diversas etapas de desarrollo y evaluación.

Algunos anticuerpos monoclonales utilizados en clínica

Anticuerpo monoclonal (mAB)	Naturaleza del anticuerpo	Blanco (especificidad de anticuerpo)	Tratamiento para
Muromonab-CD3	mAB de ratón	Células T (CD3, un antígeno de célula T)	Rechazo agudo de trasplantes de hígado, corazón y riñón
Abciximab	Quimérico humano-ratón	Receptor de coagulación de plaquetas (GP IIb/IIIa)	Coagulación sanguínea durante angioplastia y otros procedimientos cardíacos
Daclizumab	mAB humanizado	Células T activadas (subunidad α del receptor IL-2)	Rechazo agudo de trasplantes de riñón
Infliximab	Quimérico humano-ratón	Factor de necrosis tumoral (TNF), un mediador de la inflamación (TNF)	Artritis reumatoide y enfermedad de Crohn
Palivizumab	mAB humanizado	Virus sincicial respiratorio (RSV) (proteína F, un componente del RSV)	Infección por RSV en niños, en particular lactantes
Gemtuzumab	mAB humanizado	Muchas células de linaje mieloide (CD33, una molécula de adhesión)	Leucemia mieloide aguda (LMA)
Alemtuzumab	mAB humanizado	Muchos tipos de leucocitos (CD52, un antígeno de superficie celular)	Leucemia linfocítica crónica de células B
Trastuzumab	mAB humanizado	Un receptor de factor de crecimiento epidérmico (receptor HER2)	Cánceres de mama avanzados positivos para receptor HER2
Rituximab	Quimérico humano-ratón	Células B (CD20, un antígeno de superficie de célula B)	Linfoma no Hodgkin recidivante o resistente
Ibritumomab	mAB de ratón	Células B (CD20, un antígeno de superficie de célula B)	Linfoma no Hodgkin recidivante o resistente

FUENTE: Adaptado de Carter P. Improving the efficacy of antibody-based cancer therapies. *Nature Reviews/Cancer* 2001;**1:**118.

RESUMEN

- Tres familias multigénicas separadas codifican las cadenas ligeras y pesadas κ y λ de la inmunoglobulina; cada una contiene numerosos segmentos génicos y se localiza en distintos cromosomas.
- Los genes funcionales de las cadenas ligera y pesada se generan por reordenamientos aleatorios de segmentos génicos de la región variable en el DNA de la línea germinal.
- Los genes activadores de recombinasa, *RAG-1* y *RAG-2,* además de la participación de otras enzimas y proteínas, catalizan la unión V(D)J. La unión de los segmentos se dirige mediante secuencias señal de recombinación (RSS), secuencias de DNA conservadas a los lados de cada segmento génico V, D y J.
- Cada secuencia señal de recombinación contiene una secuencia heptámera conservada, una secuencia nonámera conservada y un espaciador de 12 pb (un giro) o 23 pb (dos giros). Durante el reordenamiento, los segmentos génicos con un espaciador de un giro a ambos lados sólo se unen a segmentos con un espaciador de dos giros a ambos lados, lo que asegura la unión apropiada de V_L-J_L y V_H-D_H-J_H.
- Los reordenamientos del gen de inmunoglobulina ocurren de manera secuencial: primero reordenamientos de cadena pesada, seguidos de reordenamientos de cadena ligera. La exclusión alélica es una consecuencia del reordenamiento funcional del DNA de la inmunoglobulina sólo de un cromosoma parental y es necesaria para asegurar que una célula B exprese inmunoglobulina con especificidad antigénica única.
- Los principales orígenes de la diversidad de anticuerpos, que pueden generar $>10^{10}$ posibles sitios de combinación de anticuerpos, son: unión aleatoria de múltiples segmentos génicos de las líneas germinales V, J y D; relación aleatoria de cadenas pesada y ligera; flexibilidad de unión; adición P; adición N, y mutación somática. Sin embargo, en algunas especies, como aves y rumiantes, los procesos de diversificación somática son generadores importantes de diversidad de repertorio primaria.
- Después de la inmunización, la hipermutación somática es un factor importante para generar anticuerpos con mayor afinidad por el antígeno inmunizante.
- Después de la estimulación antigénica de células B maduras, el cambio de clase tiene como resultado la expresión de diferentes clases de anticuerpo (IgG, IgA, IgE) con la misma especificidad antigénica.
- La desaminasa de citidina inducida por activación (AID) es esencial para la hipermutación somática, la conversión génica y el cambio de clase.
- El procesamiento diferencial de RNA del transcrito primario de la cadena pesada de la inmunoglobulina genera anticuerpo unido a membrana en células B maduras, anticuerpo secretado en células plasmáticas y expresión simultánea de IgM e IgD por células B maduras.
- Al menos dos tipos de secuencias reguladoras del DNA regulan la transcripción de genes de inmunoglobulina: promotoras e intensificadoras.
- El conocimiento creciente de la biología molecular de los genes de inmunoglobulina ha hecho posible obtener por ingeniería genética anticuerpos para investigación y terapéutica. Los métodos incluyen anticuerpos quiméricos, bibliotecas de genes de Ig basadas en fagos, y trasplante de loci completos de inmunoglobulina humana en ratones y bovinos para generar anticuerpos humanos.

Bibliografía

Dreyer, W. J., and J. C. Bennet. 1965. The molecular basis of antibody formation. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.* **54:**864.

Eichmann, K. 2005. *Köhler's Invention*. Birkhäuser, Boston.

Flajnik, M. F. 2002. Comparative analyses of immunoglobulin genes: Surprises and portents. *Nature Reviews Immunology* **2:**688

Fugmann, S. D., et al. 2000. The RAG proteins and V(D)J recombination: Complexes, ends and transposition. *Annual Review of Immunology* **18:**495.

Hozumi, N., and S. Tonegawa. 1976. Evidence of somatic rearrangement of immunoglobulin genes coding for variable and constant regions. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.* **73:**3628

Hudson, P. J., and C. Souriau. 2003. Engineered antibodies. *Nature Medicine* **9:**129.

Maizels, N., and M. D. Scharff. 2004. Molecular mechanism of hypermutation. In *Molecular Biology of B Cells*. T. Honjo, F. Alt, and M. Neuberger, eds. Elsevier, Amsterdam.

Maloney, D. G., et al. 1997. IDEC-C2B8 (Rituximab) anti-CD20 monoclonal antibody therapy in patients with relapsed low-grade non-Hodgkin's lymphoma. *Blood* **90:**2188.

Marks, J. D. 2004. Monoclonal antibodies from display libraries. In *Molecular Biology of B Cells*. T. Honjo, F. W. Alt, and M. S. Neuberger, eds. Elsevier, Amsterdam.

Matsuda, F., et al. 1998. The complete nucleotide sequence of the human immunoglobulin heavy chain variable region locus. *Journal of Experimental Medicine* **188**:2151.

Max, E. E. 2004. Immunoglobulins: molecular genetics. In *Fundamental Immunology,* 5th ed., W. E. Paul, ed. Lippincott-Raven, Philadelphia.

Mostoslavsky, R., F. W. Alt, and K. Rajewsky. 2004. The lingering enigma of the allelic exclusion mechanism. *Cell* **118:**539.

Muramatsu, M., et al. 2000. Class switch recombination and hypermutation require activation-induced cytidine deaminase (AID), a potential RNA editing enzyme. *Cell* **102:**553.

Oettinger, M. A., et al. 1990. *RAG-1* and *RAG-2*, adjacent genes that synergistically activate V(D)J recombination. *Science* **248:**1517.

Tonegawa, S. 1983. Somatic generation of antibody diversity. *Nature* **302:**575.

Sitios útiles de la red

http://www.clinicaltrials.gov/

Este sitio proporciona información actualizada acerca de pruebas clínicas con fondos federales y privados en seres humanos (voluntarios). Presenta información sobre finalidad, normas para reclutamiento de participantes, ubicaciones y números telefónicos para obtener más detalles. En este sitio puede consultarse información más puntual sobre calificaciones de ensayos clínicos con anticuerpos monoclonales.

http://www.google.com

Select Google Groups es un servicio gratuito de comunidad en línea y grupo de discusión que ofrece un archivo extenso sobre anuncios en Usenet sobre muchos temas. En el sitio Google Group, al seleccionar *antibody* o *phage display* se accede a una multitud de sitios con información útil sobre ingeniería de anticuerpos.

http://imgt.cines.fr/

El sitio IMGT contiene una colección de bases de datos de genes importantes para el sistema inmunitario. La base de datos IMGT/LIGM contiene secuencias pertenecientes a la superfamilia de inmunoglobulinas y secuencias del receptor de antígeno de la célula T.

Preguntas de estudio

PREGUNTA DE ENFOQUE CLÍNICO La sección de enfoque clínico incluye un cuadro de anticuerpos monoclonales aprobados para uso clínico. Dos de ellos, rituximab e ibritumomab, se utilizan para el tratamiento del linfoma no Hodgkin. Ambos se dirigen a CD20, un antígeno de superficie de las células B. Ibritumomab es modificado químicamente por la fijación de isótopos radiactivos (itrio-90, un emisor β, o indio-111, un emisor γ de alta energía) que irradian con dosis letales células a las cuales se une anticuerpo monoclonal. Los experimentos iniciales encontraron que ibritumomab sin un isótopo radiactivo unido era un agente terapéutico ineficaz, en tanto que rituximab no marcado, un anticuerpo monoclonal humanizado, era efectivo. Más aún, rituximab con un isótopo radiactivo unido era muy tóxico; ibritumomab, que llevaba el mismo isótopo en cantidades equivalentes, fue mucho menos tóxico. Explique estos resultados. (Sugerencia: cuanto más tiempo permanece un isótopo radiactivo en el cuerpo, tanto mayor es la dosis de radiación que absorbe el cuerpo.)

1. Indique si cada una de las afirmaciones siguientes es verdadera o falsa. Si piensa que una afirmación es falsa explique por qué.
   a. Los segmentos génicos V_κ se unen en ocasiones a segmentos génicos C_λ.
   b. Con excepción de un cambio a IgD, el reordenamiento del DNA media el cambio de clase de inmunoglobulinas.
   c. Los exones separados codifican la porción transmembranal de cada inmunoglobulina de membrana.
   d. Aunque cada célula B lleva dos alelos que codifican las cadenas pesada y ligera de la inmunoglobulina, sólo se expresa un alelo.
   e. Los transcritos primarios son procesados en mRNA funcional mediante eliminación de intrones, eliminación de la secuencia inicial y adición de una cola poli-A.
   f. El transcrito primario es un complemento en RNA de la cadena codificadora del DNA e incluye intrones y exones.

2. Explique por qué un segmento V_H no puede unirse de manera directa con un segmento J_H en el reordenamiento del gen de cadena pesada.

3. Considere sólo la unión combinatoria de segmentos génicos y la relación de cadenas ligera y pesada. ¿Cuántas moléculas de anticuerpo diferentes podría generar un DNA de línea germinal que contiene 500 segmentos génicos V_L, cuatro J_L, 300 V_H, 15 D_H y cuatro J_H?

4. Por cada una de las afirmaciones incompletas siguientes (a-g), elija la o las frases que completan de modo correcto la aseveración. Puede ser correcta más de una elección.
   a. La recombinación de segmentos génicos de la inmunoglobulina sirve para:
      1) Promover la diversificación de inmunoglobulinas (Ig)
      2) Ensamblar una secuencia completa de codificación de inmunoglobulina (Ig)
      3) Permitir cambios en la información codificadora durante la maduración de la célula B
      4) Aumentar la afinidad de la inmunoglobulina por anticuerpo
      5) Todas las anteriores
   b. La mutación somática de los genes de inmunoglobulina origina:
      1) Exclusión alélica
      2) Cambio de clase de IgM a IgG
      3) Maduración de afinidad
      4) Todas las anteriores
      5) Ninguna de las anteriores
   c. La frecuencia de mutación somática en genes de Ig es mayor durante:
      1) La diferenciación de células pre-B en células B maduras
      2) La diferenciación de células pre-T en células T maduras
      3) La generación de células de memoria
      4) La secreción de anticuerpo por células plasmáticas
      5) Ninguna de las anteriores
   d. Los genes de cadenas ligeras κ y λ:
      1) Se localizan en el mismo cromosoma
      2) Se relacionan sólo con un tipo de cadena pesada
      3) Pueden ser expresados por la misma célula B
      4) Todas las anteriores
      5) Ninguna de las anteriores
   e. La generación de diversidad combinatoria entre inmunoglobulinas incluye:
      1) Empalme de mRNA
      2) Reordenamiento de DNA
      3) Secuencias señal de recombinación
      4) Regla de unión de un giro-dos giros
      5) Sitios de cambio
   f. Una célula B se torna inmunocompetente:
      1) Después del reordenamiento productivo de segmentos génicos de cadena pesada de la región variable en el DNA de línea germinal
      2) Después del reordenamiento productivo de segmentos génicos de las cadenas pesadas y ligeras de la región variable en el DNA de la línea germinal
      3) Después del cambio de clase
      4) Durante la maduración de afinidad
      5) Después de la unión de citocinas T_H a sus receptores en la célula B
   g. El mecanismo que permite que las inmunoglobulinas se sinteticen en forma unida a membrana o secretada es:
      1) Exclusión alélica
      2) Expresión codominante

3) Cambio de clase
4) Regla de unión de un giro-dos giros
5) Procesamiento diferencial de RNA

5. ¿Qué mecanismos generan las tres regiones hipervariables (regiones determinantes de la complementariedad) de las cadenas pesada y ligera de la inmunoglobulina? ¿Por qué es más variable la tercera región hipervariable (CDR3) que las otras dos (CDR1 y CDR2)?

6. Se proporciona una línea de células de mieloma clonada que secreta IgG con la fórmula molecular $\gamma_2\lambda_2$. Los genes derivados del alelo 1 codifican tanto la cadena pesada como la ligera en esta línea celular. Indique la o las formas en que existiría cada uno de los genes que se indican a continuación en esta línea celular mediante los símbolos siguientes: G = forma de línea germinal; R = forma reordenada de modo productivo; NP = forma reordenada de modo improductivo. Indique el motivo de su elección en cada caso.

   a. Alelo 1 de cadena pesada
   b. Alelo 2 de cadena pesada
   c. Alelo 1 de cadena κ
   d. Alelo 2 de cadena κ
   e. Alelo 1 de cadena λ
   f. Alelo 2 de cadena λ

7. Un linfoma de célula B ha llevado a cabo reordenaciones no productivas para ambos alelos de cadena pesada. ¿Cuál es el reordenamiento de este DNA de cadena ligera? ¿Por qué?

8. Indique si cada uno de los cambios de clase que se indican a continuación puede ocurrir (*Sí*) o no (*No*).

   a. IgM a IgD
   b. IgM a IgA
   c. IgE a IgG
   d. IgA a IgG
   e. IgM a IgG

9. Describa una ventaja y una desventaja de la adición de nucleótidos N durante el reordenamiento de los segmentos génicos de cadena pesada de la inmunoglobulina.

10. Un análisis de cristalografía con rayos X de muchas moléculas de anticuerpo unidas a sus antígenos respectivos reveló que la CDR3, tanto de la cadena pesada como de la ligera, puede estar en contacto con el epítopo. Más aún, el análisis de secuencia mostró que la variabilidad de la CDR3 es mayor que la de CDR1 o CDR2. ¿Qué mecanismos explican la mayor diversidad en CDR3?

11. ¿Cuántas posibilidades tiene una célula B en desarrollo de generar un gen de cadena ligera de inmunoglobulina funcional?

12. Relacione los términos mencionados a continuación (a-h) con las descripciones siguientes (1-11). Cada descripción puede utilizarse una vez, más de una vez o ninguna vez; puede aplicarse más de una descripción a algunos términos.

    Términos

    a. ________________ RAG-1 y RAG-2
    b. ________________ Enzimas reparadoras de rotura de doble cadena (DSBR)
    c. ________________ Uniones de codificación
    d. ________________ RSS
    e. ________________ Nucleótidos P
    f. ________________ Nucleótidos N
    g. ________________ Promotores
    h. ________________ Intensificadores

Descripciones

1) Uniones entre segmentos génicos de inmunoglobulina formados durante el reordenamiento
2) Origen de la diversidad de cadenas pesadas de anticuerpos
3) Secuencias reguladoras del DNA
4) Secuencias de DNA conservadas, adyacentes a los segmentos V, D y J que ayudan al reordenamiento directo del gen
5) Enzimas expresadas en células B en desarrollo
6) Enzimas expresadas en células B maduras
7) Secuencias de nucleótido localizadas cerca de cada segmento líder en los genes de inmunoglobulina a los cuales se une la polimerasa de RNA
8) Producto de escisión por endonucleasa de intermediarios de horquilla en el reordenamiento del gen de inmunoglobulina
9) Enzimas defectuosas en el ratón con SCID
10) Secuencias de nucleótidos que aumentan mucho la intensidad de transcripción de genes de inmunoglobulina reordenados comparadas con el DNA de línea germinal
11) Nucleótidos añadidos por la enzima TdT

13. Muchos linfomas de célula B expresan inmunoglobulina de superficie en sus membranas plasmáticas. Es posible aislar este anticuerpo de linfoma y obtener un anticuerpo murino antiidiotipo monoclonal muy específico de alta afinidad contra él. ¿Qué medidas deben llevarse a cabo para hacer que este anticuerpo monoclonal de ratón sea más adecuado para utilizarse en pacientes? ¿Es muy probable que, una vez formado, este anticuerpo de diseño sea útil en general para pacientes con linfoma?

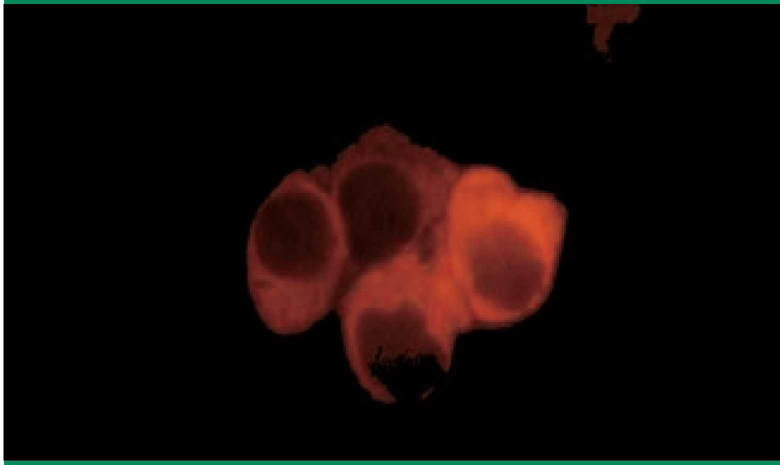
14. ¿A qué nivel, de RNA o DNA, son determinadas cada una de las siguientes actividades?

    a. Anticuerpo de membrana o secretado
    b. IgM o IgG
    c. Unión VJ
    d. IgA o IgE
    e. Unión VDJ

15. La tendencia a la alergia puede ser hereditaria, debido a una predisposición genética que favorece la producción de anticuerpos IgE. Sin embargo, el antígeno al que un individuo es alérgico (el alergeno) no se hereda. Dado que el lector sabe cómo se produce la especificidad de anticuerpo, explique esta aparente contradicción.

capítulo 6

Interacciones antígeno-anticuerpo: principios y aplicaciones



La tinción fluorescente del anticuerpo revela inmunoglobulina intracelular. [H. A. Schreuder et al., 1997, Nature *386:196; cortesía de H. Schreuder, Hoechst Marion Roussel.]*

- Potencia de las interacciones antígeno-anticuerpo
- Reactividad cruzada
- Resonancia de plasmones superficiales
- Reacciones de precipitación
- Reacciones de aglutinación
- Radioinmunoensayo
- Ensayo de inmunosorbente ligado a enzima
- Western blotting
- Inmunoprecipitación
- Inmunofluorescencia
- Citometría de flujo y fluorescencia
- Alternativas a las reacciones antígeno-anticuerpo
- Microscopia inmunoelectrónica

La interacción antígeno-anticuerpo es una relación bimolecular parecida a la interacción enzima-sustrato, con una diferencia importante: no conduce a una alteración química irreversible en el anticuerpo ni en el antígeno. La relación entre un anticuerpo y un antígeno incluye varias interacciones no covalentes entre el determinante antigénico, o epítopo, del antígeno y el dominio de región variable (V_H/V_L) de la molécula del anticuerpo, en particular las regiones hipervariables, o regiones determinantes de complementariedad (RDC). La minuciosa especificidad de las interacciones antígeno-anticuerpo condujo al desarrollo de una diversidad de pruebas inmunológicas, que pueden utilizarse para detectar la presencia de anticuerpo o de antígeno. Los inmunoensayos han sido de vital importancia en el diagnóstico de enfermedades, la vigilancia del grado de respuesta inmunitaria humoral y la identificación de moléculas de interés biológico o médico. Estas valoraciones difieren en su rapidez y sensibilidad; algunas son estrictamente cualitativas, otras son cuantitativas. En este capítulo se examina la naturaleza de la interacción antígeno-anticuerpo y se describen diversas pruebas inmunitarias que miden o aprovechan esta interacción.

Potencia de las interacciones antígeno-anticuerpo

Las interacciones no covalentes que forman la base de la unión antígeno-anticuerpo (Ag-Ab) incluyen enlaces de hidrógeno, enlaces iónicos, interacciones hidrófobas e interacciones de van der Waals (fig. 6-1). Puesto que estas interacciones son débiles a nivel individual (comparadas con un enlace covalente), se necesita un gran número de ellas para formar una interacción Ag-Ab potente. Más aún, cada una de estas interacciones no covalentes opera a una distancia muy corta, por lo general de alrededor de 1×10^{-7} mm (1 angstrom, Å); en consecuencia, una interacción Ag-Ab potente depende de un ajuste muy estrecho entre el antígeno y el anticuerpo. Este ajuste requiere un grado alto de complementariedad entre el antígeno y el anticuerpo, una exigencia que sustenta la especificidad exquisita que caracteriza las interacciones antígeno-anticuerpo.

La afinidad de anticuerpo es una medida cuantitativa de la fuerza de la unión

La fuerza combinada de las interacciones no covalentes entre un sitio de unión de antígeno *único* en un anticuerpo y un epítopo

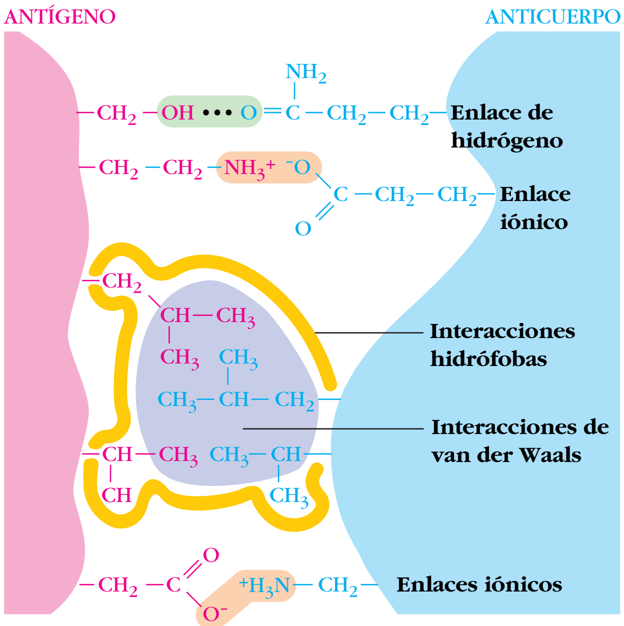


FIGURA 6-1 **La interacción entre un anticuerpo y un antígeno depende de cuatro tipos de fuerzas no covalentes: 1) enlaces de hidrógeno, en los que dos átomos electronegativos comparten un átomo de hidrógeno; 2) enlaces iónicos entre residuos de carga opuesta; 3) interacciones hidrófobas, en las que el agua fuerza la unión de grupos hidrófobos, y 4) interacciones de van der Waals entre las nubes de electrones externos de dos o más átomos.** En un ambiente acuoso, las interacciones no covalentes son en extremo débiles y dependen de la complementariedad cercana de las formas del anticuerpo y el antígeno.

único es la **afinidad** del anticuerpo por ese epítopo. Los anticuerpos de afinidad baja unen antígeno de manera débil y tienden a disociarse con facilidad, en tanto que los de afinidad alta unen antígeno con más firmeza y la unión se mantiene por más tiempo. La relación entre el sitio de unión en un anticuerpo (Ab) y un antígeno (Ag) monovalente puede describirse mediante la ecuación

$$\mathrm{Ag} + \mathrm{Ab} \underset{k_{-1}}{\overset{k_1}{\rightleftharpoons}} \mathrm{Ag\text{-}Ab}$$

donde k_1 es la constante de velocidad hacia la derecha (asociación) y k_{-1} es la constante de rapidez hacia la izquierda (disociación). En términos bioquímicos, la relación k_1/k_{-1} es la **constante de asociación, K_a** (es decir, $k_1/k_{-1} = K_a$), una medida de afinidad. En inmunología, K_a se denomina **constante de afinidad**. Como K_a es la constante de equilibrio para la reacción de un sitio de unión del anticuerpo con el antígeno y como la concentración molar de un sitio de unión individual es igual a la concentración del anticuerpo, K_a puede calcularse a partir de la relación de la concentración molar del complejo Ag-Ab con las concentraciones molares de antígeno y anticuerpo no unidos en equilibrio como sigue:

$$K_a = \frac{[\mathrm{Ag\text{-}Ab}]}{[\mathrm{Ab}][\mathrm{Ag}]}$$

El valor de K_a varía para diferentes complejos Ag-Ab y depende tanto de k_1, que se expresa en unidades de litros/mol/segundo (L/mol/s), como de k_{-1}, que se expresa en unidades de 1/s. Para haptenos pequeños, la constante de velocidad hacia la derecha puede ser en extremo alta; en algunos casos k_1 puede ser tan alta como 4×10^8 L/mol/s, próxima al límite superior teórico de las reacciones limitadas por difusión (10^9 L/mol/s). Sin embargo, para antígenos proteínicos más grandes k_1 es más pequeña, con valores en el intervalo de 10^5 L/mol/s.

La velocidad con que el antígeno unido deja un sitio de unión a anticuerpo (es decir, la constante de velocidad de disociación, k_{-1}) tiene una función importante en determinar la afinidad del anticuerpo por un antígeno. El cuadro 6-1 ilustra el papel de k_{-1} para determinar la constante de asociación K_a para varias interacciones Ag-Ab. Por ejemplo, la k_1 para el sistema DNP-L-lisina es alrededor de un quinto de la del sistema de fluoresceína, pero su k_{-1} es 200 veces mayor; en consecuencia, la afinidad K_a del anticuerpo antifluoresceína por el sistema de fluoresceína es unas 1 000 veces mayor que la del anticuerpo anti-DNP. Los complejos Ag-Ab de afinidad baja poseen valores K_a entre 10^4 y 10^5 L/mol; los complejos de afinidad alta pueden tener valores de K_a tan altos como 10^{11} L/mol.

La disociación del complejo antígeno-anticuerpo tiene interés para algunos propósitos:

$$\mathrm{Ag\text{-}Ab} \rightleftharpoons \mathrm{Ag} + \mathrm{Ab}$$

La constante de equilibrio para esta reacción de disociación es **K_d**, la **constante de disociación**, que es el recíproco de K_a:

$$K_d = \frac{[\mathrm{Ab}][\mathrm{Ag}]}{[\mathrm{Ab\text{-}Ag}]} = 1/K_a$$

Los complejos muy estables tienen valores muy bajos de K_d; los menos estables tienen valores más altos. Aunque K_d no es la

CUADRO 6-1 Constantes de velocidad hacia la derecha y hacia la izquierda (k_1 y k_{-1}) y constantes de asociación y disociación (K_a y K_d) para tres interacciones de ligando y anticuerpo

Anticuerpo	Ligando	k_1	k_{-1}	K_a	K_d
Anti-DNP	ϵ-DNP-L-lisina	8×10^7	1	1×10^8	1×10^{-8}
Antifluoresceína	Fluoresceína	4×10^8	5×10^{-3}	1×10^{11}	1×10^{-11}
Antialbúmina sérica de bovino (BSA)	Dansil-BSA	3×10^5	2×10^{-3}	1.7×10^8	5.9×10^{-9}

FUENTE: Adaptado de H. N. Eisen, 1990, *Immunology*, 3rd ed., Harper & Row Publishers.

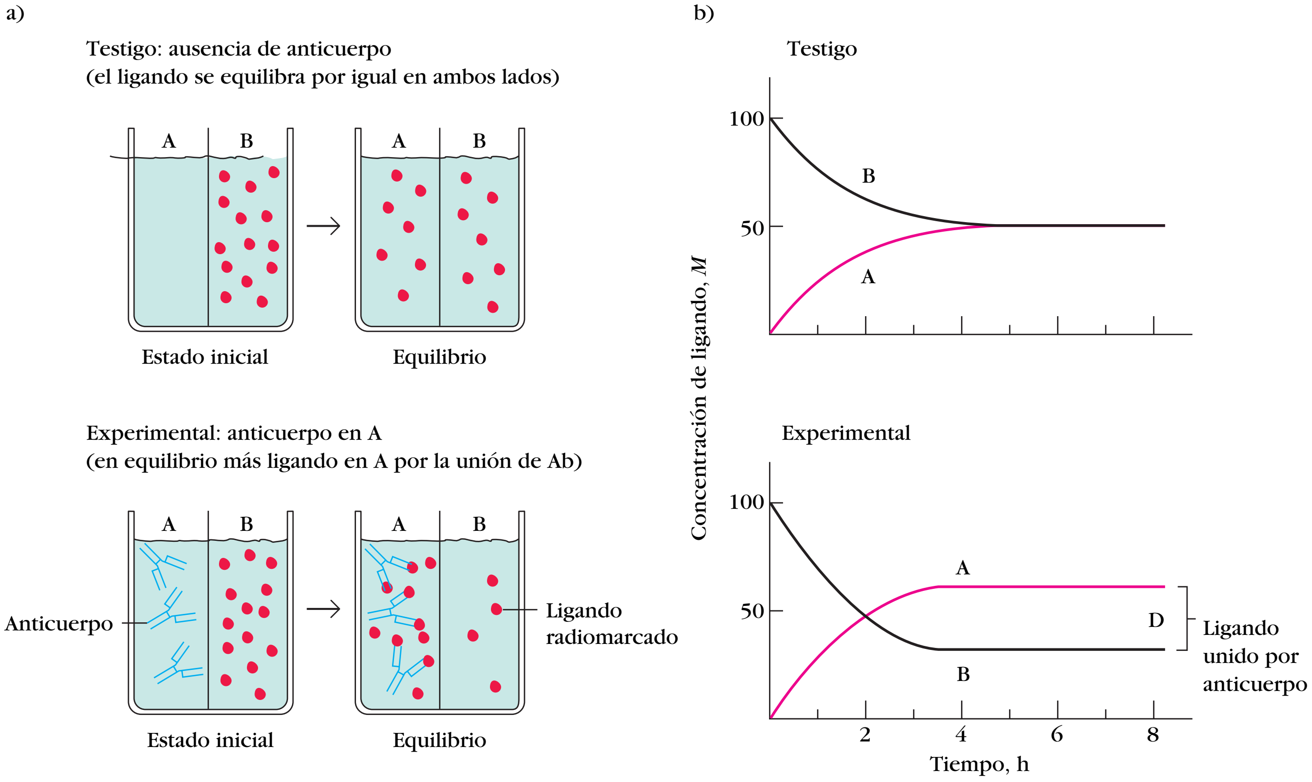

a)
Testigo: ausencia de anticuerpo
(el ligando se equilibra por igual en ambos lados)
A
B
A
B
Estado inicial
Equilibrio
Experimental: anticuerpo en A
(en equilibrio más ligando en A por la unión de Ab)
A
B
A
B
Anticuerpo
Ligando radiomarcado
Estado inicial
Equilibrio
b)
Testigo
100
50
B
A
Concentración de ligando, M
Experimental
100
50
A
B
D
Ligando unido por anticuerpo
2
4
6
8
Tiempo, h

FIGURA 6-2 Determinación de la afinidad del anticuerpo mediante diálisis de equilibrio. a) La cámara de diálisis contiene dos compartimientos (A y B) separados por una membrana semipermeable. Se añade anticuerpo a un compartimiento y un ligando radiomarcado al otro. Una vez en equilibrio, se mide la concentración de radiactividad en ambos compartimientos. b) Gráfica de la concentración de ligando en cada compartimiento con el tiempo. En equilibrio, la diferencia en la concentración de ligando radiactivo en los dos compartimientos representa la cantidad de ligando unido al anticuerpo.

constante de afinidad, por supuesto ésta, K_a, puede calcularse fácilmente a partir de K_d como sigue: $K_a = 1/K_d$.

La constante de afinidad, K_a, que antes se determinaba mediante **diálisis de equilibrio**, ahora se deduce por métodos más modernos, en especial resonancia de plasmones superficiales (SPR, del inglés *surface plasmon resonance*), que se considera en una sección posterior. Dado que la diálisis de equilibrio ilustra importantes principios y para algunos inmunólogos sigue siendo el estándar contra el cual se evalúan otros métodos, se describe aquí. En este procedimiento se utiliza una cámara de diálisis que contiene dos compartimientos iguales separados por una membrana semipermeable. En un compartimiento se coloca el anticuerpo y en el otro un ligando marcado radiactivamente que es lo bastante pequeño para pasar a través de una membrana semipermeable (fig. 6-2). Entre los ligandos convenientes se incluyen haptenos, oligosacáridos y oligopéptidos. En ausencia de anticuerpo, el ligando añadido al compartimiento B se equilibra en ambos lados de la membrana (fig. 6-2a). Sin embargo, en presencia de anticuerpo, parte del ligando marcado se une al anticuerpo en equilibrio, atrapando el ligando en el lado del recipiente en que se encuentra el anticuerpo, en tanto que el ligando unido se distribuye por igual en ambos compartimientos. De este modo, la concentración total del ligando es mayor en el compartimiento que contiene anticuerpo (fig. 6-2b). La diferencia de concentración del ligando en los dos compartimientos representa la concentración de ligando unido al anticuerpo (es decir, la concentración del complejo Ag-Ab). Cuanto más alta la afinidad del anticuerpo, tanto más ligando se une.

Puesto que se conoce la concentración de anticuerpo en la cámara de diálisis de equilibrio, la concentración de complejos antígeno-anticuerpo puede determinarse por medio de [Ab-Ag]/n, donde n es el número de sitios de unión por molécula de anticuerpo. La constante de equilibrio o constante de afinidad, K_a, para un sitio de unión individual es

$$K_d\,[\text{Ab-Ag}]/[\text{Ab}][\text{Ag}] = \frac{r}{c\,(n - r)}$$

donde r es igual al cociente de la concentración de ligando unido sobre la concentración total de anticuerpo, c es la concentración de ligando libre y n sigue siendo el número de sitios de unión por molécula de anticuerpo. Esta expresión puede reordenarse para obtener la **ecuación de Scatchard**:

$$\frac{r}{c} = K_a n - K_a r$$

Es posible obtener valores para r y c mediante la repetición de la diálisis de equilibrio con la misma concentración de anticuerpo pero con diferentes concentraciones de ligando. Si K_a es una constante, es decir, si todos los anticuerpos dentro de la cámara de diálisis tienen la misma afinidad por el ligando, entonces una gráfica de Scatchard de r/c contra r da una línea recta con

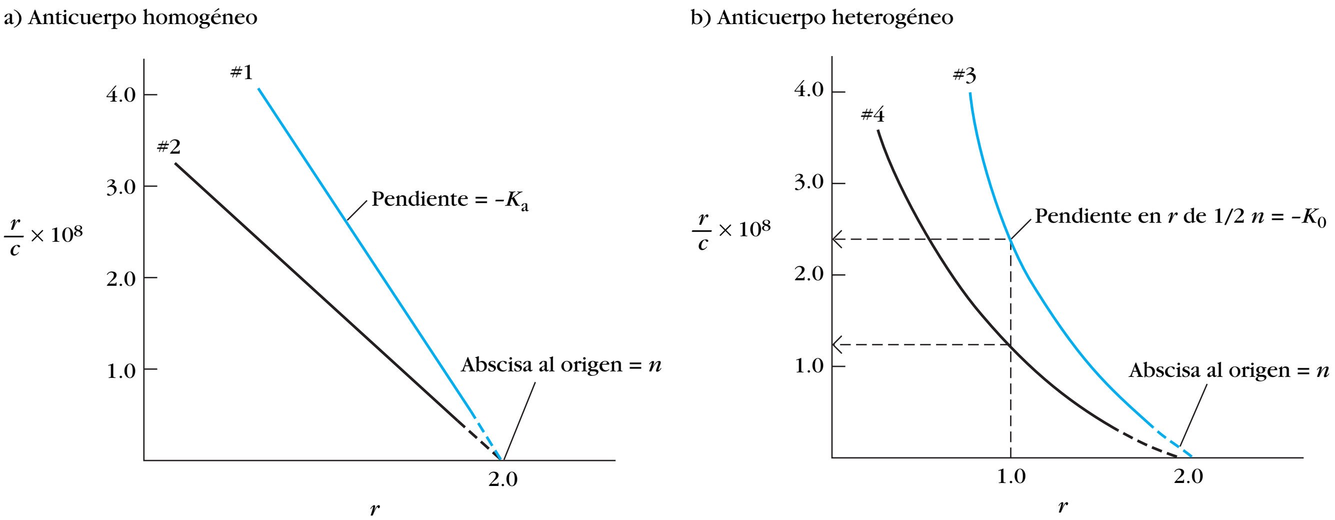


FIGURA 6-3 Las gráficas de Scatchard se basan en diálisis de equilibrio repetidas con una concentración constante de anticuerpo y variable de ligando. En estas gráficas r equivale a los moles de ligando unido/mol de anticuerpo y c es la concentración de ligando libre. A partir de una gráfica de Scatchard es posible obtener tanto la constante de equilibrio (K_a) como el número de sitios de unión por molécula de anticuerpo (n), o su valencia. a) Si todos los anticuerpos tienen la misma afinidad, entonces una gráfica de Scatchard produce una línea recta con pendiente de $-K_a$. La abscisa al origen es n, la valencia del anticuerpo, que es 2 para la IgG y otras Ig divalentes. Para la IgM, que es pentamérica, $n = 10$, y para la IgA dimérica, $n = 4$. En esta gráfica el anticuerpo número 1 tiene afinidad más alta que el anticuerpo número 2. b) Si el preparado de anticuerpo es policlonal y tiene una gama de afinidades, una gráfica de Scatchard produce una línea curva cuya pendiente cambia constantemente. La constante de afinidad promedio K_0 puede calcularse al determinar el valor de K_a cuando la mitad de los sitios de unión está ocupada (cuando $r = 1$ en este ejemplo). En esta gráfica el antisuero número 3 tiene afinidad más alta ($K_0 = 2.4 \times 10^8$) que el antisuero número 4 ($K_0 = 1.25 \times 10^8$). Obsérvese que las curvas que se muestran en a) y b) son para anticuerpos divalentes como IgG.

pendiente $-K_a$ (fig. 6-3a). Conforme la concentración de ligando c no unido aumenta, r/c tiende a 0 y r tiende a n, la **valencia**, igual al número de sitios de unión por molécula de anticuerpo.

La mayoría de los preparados de anticuerpos son policlonales y presentan una mezcla heterogénea de anticuerpos con una gama de afinidades. Una gráfica de Scatchard de anticuerpo heterogéneo da una línea curva cuya pendiente cambia de manera constante, lo que refleja esa heterogeneidad de anticuerpo (fig. 6-3b). Este tipo de gráfica de Scatchard permite hallar la constante de afinidad promedio, K_0, determinando el valor de K_a cuando la mitad de los sitios de unión a antígeno está ocupada. Ello se efectúa en forma conveniente al determinar la pendiente de la curva en el punto en que la mitad de los sitios de unión a antígeno está ocupada.

La avidez del anticuerpo incorpora la afinidad de múltiples sitios de unión

La afinidad de un sitio de unión no siempre refleja la verdadera potencia de la interacción antígeno-anticuerpo. Cuando se mezclan antígenos complejos que contienen múltiples determinantes antigénicos repetidos con anticuerpos que incluyen múltiples sitios de unión, la interacción de una molécula de anticuerpo con una molécula de antígeno en un sitio incrementa la probabilidad de reacción entre esas dos moléculas en un segundo sitio. La fuerza de estas interacciones múltiples entre un anticuerpo y un antígeno multivalentes se denomina **avidez**. La avidez es una medida más adecuada que la afinidad para cuantificar la capacidad de unión de un anticuerpo dentro de los sistemas biológicos (p. ej., la reacción de un anticuerpo con determinantes antigénicos sobre un virus o una célula bacteriana). La avidez es la constante de equilibrio, K_{eq}, para la interacción entre el anticuerpo intacto y el antígeno; la afinidad es la constante de equilibrio para la reacción entre un sitio de unión individual del anticuerpo y el antígeno. En condiciones ideales la avidez será el producto de las afinidades de los sitios de unión individuales de un anticuerpo. Para una molécula de IgG, que tiene dos sitios de unión con afinidades idénticas, en condiciones ideales la avidez sería

$$\text{Avidez} = K_a \times K_a = (K_a)^2 = K_{eq} = \frac{[\text{Ab-Ag}]}{[\text{Ab}]\,[\text{Ag}]}$$

Esta ecuación representa un máximo teórico para la avidez; los valores reales de ésta siempre son varios órdenes de magnitud menores que el producto de las afinidades. La diferencia se debe principalmente a la geometría de la unión Ab-Ag. El sitio de unión de un anticuerpo en contacto con un epítopo individual de un antígeno puede estar orientado de manera óptima para el mejor ajuste, mientras que la unión a epítopos múltiples en el antígeno blanco puede requerir de una configuración geométrica un tanto tensa e interacciones de unión menos óptimas. A pesar de las barreras geométricas para el logro de los valores teóricos máximos de avidez, la avidez es mayor que la afinidad. Así, una avidez alta a menudo puede compensar una afinidad baja. Por ejemplo, con frecuencia los sitios de unión de las moléculas de IgM (pentaméricas) secretadas tienen afinidad significativamente más baja que los de la IgG, monomérica, pero la alta avidez de la IgM, que resulta de su valencia más alta, le permite unir antígeno de manera eficaz. De hecho, en el caso de un antígeno con muchos epítopos repetitivos estrechamente espaciados, como los que se encuentran en la superficie de bacterias y otros patógenos, una IgM con sitios de unión de menor afinidad puede unirse más firmemente que una IgM con sitios de mayor afinidad.

Reactividad cruzada

Aunque las reacciones Ag-Ab son muy específicas, en algunos casos el anticuerpo estimulado por un antígeno puede reaccionar en forma cruzada con un antígeno no relacionado. Esta **reactividad cruzada** ocurre si dos antígenos diferentes comparten un epítopo idéntico o muy similar. En el último caso la afinidad del anticuerpo por el epítopo de reacción cruzada suele ser menor que para el epítopo original.

Con frecuencia se observa reactividad cruzada entre antígenos polisacáridos que contienen residuos oligosacáridos similares. Por ejemplo, los **antígenos del grupo sanguíneo ABO** son glucolípidos que se expresan en los glóbulos rojos. Diferencias sutiles en los residuos terminales de los azúcares unidos a estos glucolípidos de superficie distinguen los antígenos de los grupos sanguíneos A y B. Aunque los mecanismos de tolerancia impiden la formación de anticuerpos contra los antígenos del propio grupo sanguíneo, una persona que carece de uno o ambos de estos antígenos tendrá anticuerpos séricos contra el o los antígenos faltantes, inducidos no por la exposición a antígenos de los glóbulos rojos sino por la exposición a antígenos microbianos de reacción cruzada presentes en las bacterias intestinales comunes. Estos antígenos microbianos inducen la formación de anticuerpos en personas que carecen de los antígenos de grupos sanguíneos similares en sus glóbulos rojos. (En quienes poseen estos antígenos, los anticuerpos complementarios se eliminarían durante la etapa de desarrollo, en la que se desechan las células productoras de anticuerpos que reconocen epítopos propios; véase el cap. 16.) Aunque los anticuerpos de grupo sanguíneo son inducidos por agentes microbianos, reaccionan en forma cruzada con oligosacáridos similares en glóbulos rojos extraños, lo que constituye la base para las pruebas de tipificación sanguínea y explica la necesidad de grupos de sangre compatibles para las transfusiones sanguíneas. Un individuo del grupo A tiene anticuerpos anti-B, una persona del grupo B tiene anti-A y un individuo grupo O tiene anti-A y anti-B (cuadro 6-2).

CUADRO 6-2 Grupos sanguíneos ABO

Grupo sanguíneo	Antígenos en eritrocitos	Anticuerpos séricos
A	A	Anti-B
B	B	Anti-A
AB	A y B	Ninguno
O	Ninguno	Anti-A y anti-B

Varios virus y bacterias poseen determinantes antigénicos idénticos o similares a componentes normales de la célula hospedadora. Está demostrado que en algunos casos estos antígenos microbianos estimulan anticuerpos que reaccionan de manera cruzada con los componentes de la célula hospedadora y dan por resultado una reacción autoinmunitaria que daña tejido. Por ejemplo, la bacteria *Streptococcus pyogenes* expresa proteínas de pared celular llamadas antígenos M. Se sabe que los anticuerpos producidos contra antígenos M estreptocócicos reaccionan en forma cruzada con varias proteínas miocárdicas y del músculo esquelético, y participan en el daño cardíaco y renal consecutivo a infecciones estreptocócicas. La función de otros antígenos de reacción cruzada en el desarrollo de enfermedades autoinmunitarias se estudia en el capítulo 16.

Ciertas vacunas también muestran reactividad cruzada. Por ejemplo, el virus de la viruela bovina, que causa la pústula vacuna, expresa epítopos que reaccionan en forma cruzada con el virus variola, el agente causal de la viruela. Como se menciona en el capítulo 1, esta reactividad cruzada fue la base del método de Jenner en el que se utiliza virus de la viruela bovina a fin de inducir inmunidad a la viruela.

Resonancia de plasmones superficiales

Los métodos de diálisis de equilibrio para medir la afinidad de anticuerpo han sido superados desde mediados del decenio de 1990 por la **resonancia de plasmones superficiales** (**SPR**, del inglés *surface plasmon resonance*), que es mucho más sensible, práctica y rápida (fig. 6-4a). Además de permitir la medición de constantes de afinidad, la SPR puede usarse para determinar la rapidez de reacciones antígeno-anticuerpo e incluso puede adaptarse para medir concentraciones de anticuerpo. La SPR funciona detectando cambios en las propiedades de reflectancia de la superficie de un detector recubierto de antígeno cuando se une a anticuerpo. Aunque la física subyacente a la SPR es bastante compleja [y lo mejor para estudiarla es consultar las referencias adecuadas (Rich y Myszka, 2003) y los sitios Web que se enumeran al final del capítulo], el método es directo e ingenioso. Un haz de luz polarizada se hace pasar por un prisma hacia una delgada película de oro (cubierta con antígeno del lado opuesto) y se refleja en la película hacia un detector colector de luz. Sin embargo, a un ángulo único, parte de la luz incidente es absorbida por la capa de oro, y su energía se transforma en ondas de carga llamadas plasmones superficiales. A ese ángulo, llamado ángulo de resonancia, es posible medir una caída abrupta en la intensidad de la luz reflejada. El ángulo depende del color de la luz, el espesor y la conductancia de la película metálica, y las propiedades ópticas del material cerca de las superficies de las capas de oro. El método de SPR aprovecha el último de estos factores: la unión de anticuerpos al antígeno adherido a la pastilla tiene un efecto lo suficientemente intenso para producir un cambio detectable en el ángulo de resonancia. Se ha descubierto que el ángulo es proporcional al número de anticuerpos unidos. Midiendo la rapidez con que el ángulo de resonancia cambia durante una reacción antígeno-anticuerpo, es posible determinar la rapidez de esta reacción (fig. 6-4b). En la práctica, esto se

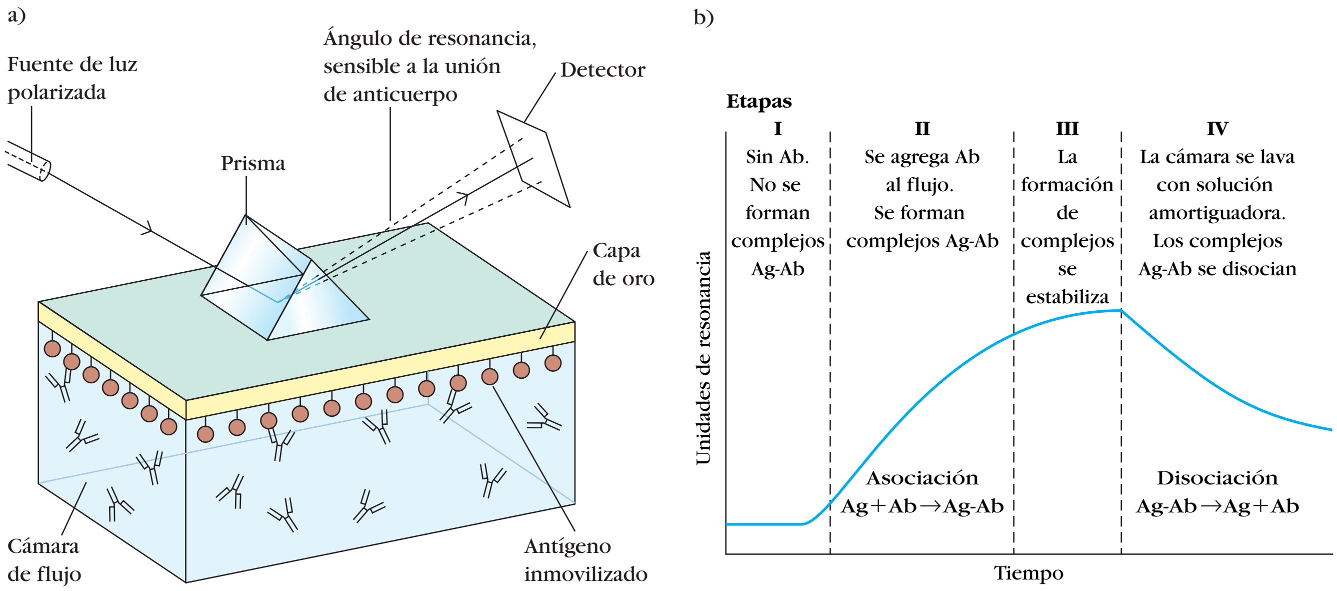

a)
Fuente de luz polarizada
Ángulo de resonancia, sensible a la unión de anticuerpo
Detector
Prisma
Capa de oro
Cámara de flujo
Antígeno inmovilizado
b)
Etapas
I
Sin Ab. No se forman complejos Ag-Ab
II
Se agrega Ab al flujo. Se forman complejos Ag-Ab
III
La formación de complejos se estabiliza
IV
La cámara se lava con solución amortiguadora. Los complejos Ag-Ab se disocian
Unidades de resonancia
Asociación
Ag+Ab→Ag-Ab
Disociación
Ag-Ab→Ag+Ab
Tiempo

FIGURA 6-4 Resonancia de plasmones superficiales (SPR). a) Una solución amortiguadora que contiene anticuerpo se hace pasar por una cámara de flujo, una de cuyas paredes contiene una capa de antígeno inmovilizado. Como se explica en el texto, la formación de complejos antígeno-anticuerpo en esta capa causa un cambio en el ángulo de resonancia de un haz de luz polarizada contra la cara posterior de la capa. Un detector sensible registra los cambios en el ángulo de resonancia a medida que se forman complejos antígeno-anticuerpo. b) Interpretación de un sensograma. Existen cuatro etapas en la gráfica de la respuesta del detector (expresada en unidades de resonancia, que representan un cambio de 0.0001 grado en el ángulo de resonancia) contra tiempo. Etapa I: se hace pasar el amortiguador a través de la cámara de flujo. No hay presentes complejos Ag-Ab, lo cual permite establecer un nivel de referencia. Etapa II: se introduce anticuerpo en el flujo y se forman complejos Ag-Ab. La pendiente positiva de esta curva es proporcional a la rapidez de reacción hacia la derecha. Etapa III: la curva forma una meseta cuando todos los sitios capaces de unirse a la concentración prevaleciente de anticuerpo están ocupados. La altura de la meseta es directamente proporcional a la concentración de anticuerpo. Etapa IV: la celda de flujo se lava con amortiguador que no contiene anticuerpo, y los complejos Ag-Ab se disocian. La rapidez de disociación es proporcional a la pendiente de la curva de disociación. El cociente de las pendientes (ascendente sobre descendente) es igual a $k_1/k_2 = k_a$.

realiza haciendo pasar una solución con una concentración conocida de anticuerpo sobre la pastilla cubierta de antígeno. La gráfica de los cambios medidos durante el experimento de SPR contra el tiempo se denomina *sensograma*. En el curso de una reacción antígeno-anticuerpo, el sensograma asciende hasta que todos los sitios capaces de unirse a antígeno (a una concentración dada) lo han hecho. Más allá de ese punto el sensograma describe una meseta. Los datos de estas mediciones pueden usarse para calcular k_1, la constante de velocidad de asociación para la reacción

$$\text{Ab} + \text{Ag} \xrightarrow[k_1]{} \text{Ab-Ag}$$

Una vez que se ha alcanzado la meseta, puede hacerse pasar por la cámara solución sin anticuerpo. En estas condiciones los complejos antígeno-anticuerpo se disocian, lo que permite el cálculo de la constante de velocidad de disociación, k_2. La medición de k_1 y k_2 hace posible determinar la constante de afinidad K_a, ya que $K_a = k_1/k_2$.

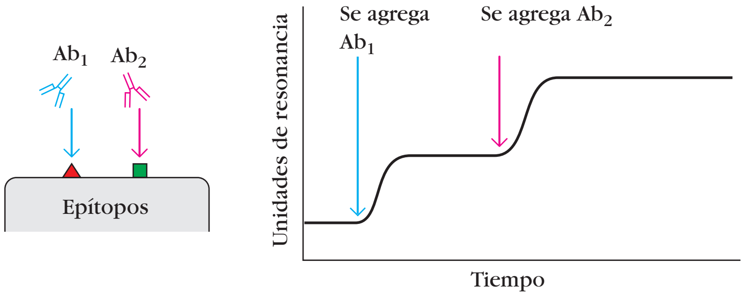
La resonancia de plasmones superficiales también puede usarse para medir la concentración de anticuerpo en una muestra. La cantidad de complejo antígeno-anticuerpo que se forma sobre la pastilla es representada por la altura del sensograma, y esta medida es directamente proporcional a la cantidad de anticuerpo en la solución que fluye por la cámara. Comparando con datos de referencia es posible determinar las concentraciones de anticuerpo.

La SPR puede usarse para caracterizar las especificidades de epítopo de grupos de anticuerpos

La SPR tiene otros usos además de medir la afinidad o concentración de anticuerpos. Supóngase que se tienen dos anticuerpos monoclonales distintos contra un antígeno como gp120, la proteína de cubierta del VIH. ¿Se unen estos anticuerpos al mismo epítopo o a epítopos diferentes de esta proteína clave? La resonancia de plasmones superficiales constituye un poderoso método para responder dicha pregunta. Los anticuerpos que se unen a diferentes epítopos sobre un antígeno producen un sensograma característico cuando se colocan de manera seriada en la cámara (fig. 6-5a). Los anticuerpos que se unen al mismo epítopo compiten entre sí por los sitios de unión, y cada uno bloquea la unión del otro, como lo demuestran las gráficas de la figura 6-5b.

En una variación de este procedimiento, es posible usar síntesis química o hidrólisis enzimática juiciosa para generar un conjunto de fragmentos de un antígeno y luego inmovilizar cada uno de estos fragmentos en una pastilla. Suponiendo que los fragmentos de antígeno tienen la misma conformación tridimensional que el antígeno nativo, pueden determinarse las reactividades (o la falta de ellas) de anticuerpos y aislar los sitios de los epítopos en la molécula de antígeno original, un procedimiento llamado **mapeo de epítopos**.

a) Ab$_1$ y Ab$_2$ se unen a diferentes epítopos del mismo antígeno



b) Ab$_1$ y Ab$_2$ se unen al mismo epítopo

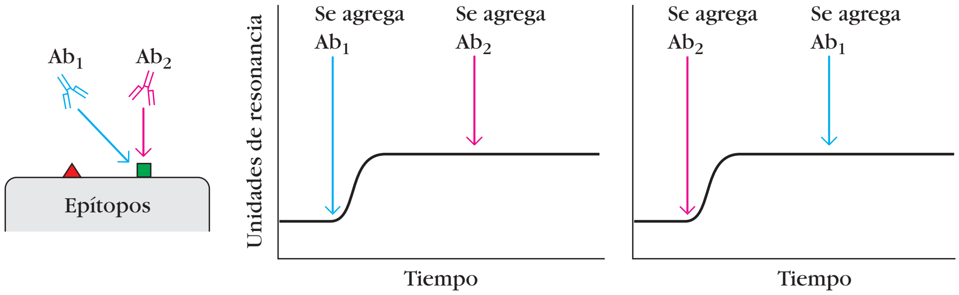


FIGURA 6-5 La SPR puede usarse para determinar si diferentes anticuerpos se unen al mismo epítopo o a epítopos diferentes. a) Ab$_1$ y Ab$_2$ reconocen diferentes epítopos del antígeno. La inyección inicial de Ab$_1$ causa un aumento desde el nivel basal hasta una meseta; la adición ulterior de Ab$_2$ causa un aumento hasta una segunda meseta más alta. Esto indica que Ab$_1$ y Ab$_2$ reaccionan con diferentes epítopos en el antígeno, por ejemplo dos regiones espacialmente distintas de una proteína. b) Ab$_1$ y Ab$_2$ reconocen el mismo epítopo del antígeno. En el primer sensograma, la adición de Ab$_1$ revela una respuesta, y la inyección ulterior de Ab$_2$ no genera respuesta ulterior. En el segundo sensograma, la adición de Ab$_2$ revela primero una respuesta, pero la adición ulterior de Ab$_1$ no induce una respuesta ulterior. Este patrón indica que Ab$_1$ y Ab$_2$ se unen de manera competitiva, ya que ambos reconocen el mismo epítopo en el antígeno; la unión de uno bloquea la unión subsecuente del otro.

Reacciones de precipitación

El anticuerpo y el antígeno soluble que interactúan en una solución acuosa forman un retículo que por último se convierte en un precipitado visible. Los anticuerpos que aglomeran antígenos solubles se denominan **precipitinas**. Aunque la formación del complejo soluble Ag-Ab ocurre en el transcurso de minutos, la del precipitado visible se lleva a cabo con mayor lentitud y a menudo requiere uno o dos días para completarse.

La formación de un retículo de Ag-Ab depende de la valencia tanto del anticuerpo como del antígeno:

- El anticuerpo debe ser bivalente; no se forma un precipitado con fragmentos Fab monovalentes.
- El antígeno debe ser bivalente o polivalente; es decir, debe tener cuando menos dos copias del mismo epítopo o presentar diferentes epítopos que reaccionan con distintos anticuerpos presentes en antisuero policlonal.

Aunque en alguna época los principales tipos de valoración empleados en inmunología fueron diversas modificaciones de la reacción de precipitación, se sustituyeron en gran parte por métodos más rápidos y que sólo requieren cantidades muy pequeñas de antígeno o anticuerpo porque son mucho más sensibles. Además, estos métodos modernos de valoración no se limitan a las reacciones antígeno-anticuerpo que producen un precipitado. En el cuadro 6-3 se compara la *sensibilidad* o cantidad mínima de anticuerpo detectable por varios inmunoensayos.

Las reacciones de precipitación en gel producen líneas de precipitina visibles

Los precipitados inmunitarios no sólo pueden formarse en solución sino también en una matriz de agar. Cuando el antígeno y el anticuerpo se difunden uno hacia el otro en agar, o cuando el anticuerpo se incorpora dentro del agar y el antígeno se difunde hacia la matriz que contiene anticuerpo, se forma una línea visible de precipitación. Como en la reacción de precipitación en líquido, ocurre una precipitación visible en la región de equivalencia, en tanto que no se observa precipitado visible en las regiones de exceso de anticuerpo o antígeno. Es posible utilizar dos tipos de *reacciones de inmunodifusión* para determinar las concentraciones relativas de anticuerpos o antígenos, comparar antígenos o determinar la pureza relativa de una preparación de antígeno. Éstos son la **inmunodifusión radial** (método de Mancini) y la **inmunodifusión doble** (método de Ouchterlony); ambos se efectúan en un medio semisólido como el agar. En la inmunodifusión radial se coloca una muestra de antígeno en un foso y se deja difundir en agar que contiene una dilución conveniente de un antisuero. Conforme el antígeno se difunde dentro

CUADRO 6-3 Sensibilidad de diversos inmunoensayos

Prueba	Sensibilidad* (µg de anticuerpo/ml)
Reacción de precipitación en líquidos	20–200
Reacciones de precipitación en gel	
Inmunodifusión radial de Mancini	10–50
Doble inmunodifusión de Ouchterlony	20–200
Inmunoelectroforesis	20–200
Electroforesis en cohete	2
Reacciones de aglutinación	
Directa	0.3
Aglutinación pasiva	0.006–0.06
Inhibición de la aglutinación	0.006–0.06
Radioinmunoensayo	0.0006–0.006
Ensayo de inmunosorbente ligado a enzima (ELISA)	~0.0001–0.01
ELISA con quimioluminiscencia	~0.00001–0.01†
Inmunofluorescencia	1.0
Citometría de flujo	0.006–0.06

*La sensibilidad depende tanto de la afinidad del anticuerpo usado para el ensayo como de la densidad de epítopos y la distribución del antígeno.

†Obsérvese que la sensibilidad de las pruebas ELISA basadas en quimioluminiscencia puede equipararse a la de RIA.

FUENTE: Adaptado de N. R. Rose et al., eds., 1997, *Manual of Clinical Laboratory Immunology;* 5th ed. American Society for Microbiology, Washington, D.C.

del agar, la región de equivalencia se establece y alrededor del foso se forma un anillo de precipitación, un anillo de precipitina (fig. 6-6, parte superior). El área del anillo de precipitina es proporcional a la concentración de antígeno. La comparación del área del anillo de precipitina con una curva estándar (que se obtiene al medir las áreas de precipitina de concentraciones conocidas del antígeno) permite determinar la concentración en la muestra de antígeno. En el método de Ouchterlony tanto el antígeno como el anticuerpo se difunden radialmente desde los fosos uno hacia el otro y por tanto se establece un gradiente de concentración. Conforme la equivalencia se alcanza, se produce una línea visible de precipitación, una línea de precipitina (fig. 6-6, parte inferior).

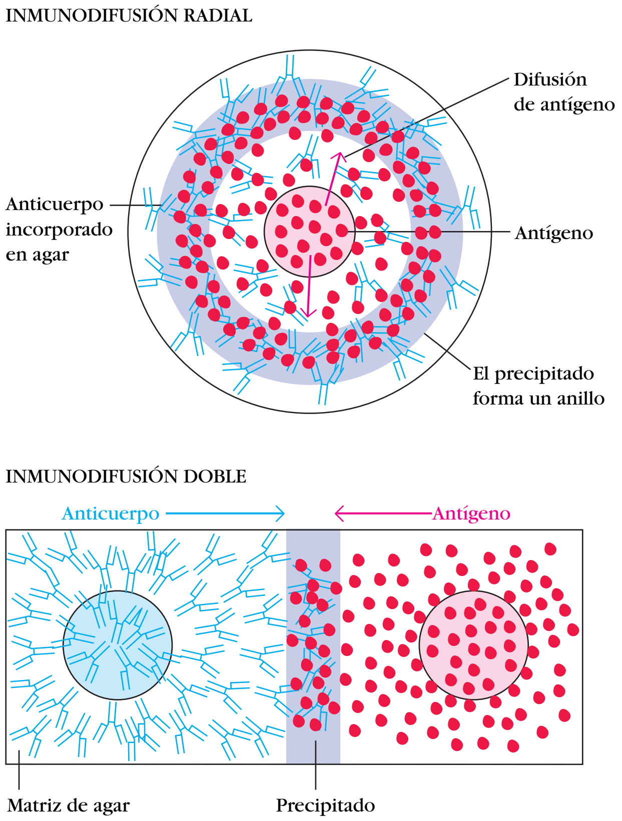


FIGURA 6-6 Diagramas de la inmunodifusión radial (método de Mancini) y la inmunodifusión doble (método de Ouchterlony) en un gel. En ambos casos se forman complejos insolubles grandes en el agar en la zona de equivalencia, visibles como líneas de precipitación (regiones púrpura). En la inmunodifusión radial sólo el antígeno (rojo) se difunde, en tanto que en la inmunodifusión doble se difunden tanto el anticuerpo (azul) como el antígeno (rojo).

La inmunoelectroforesis combina electroforesis e inmunodifusión doble

En la **inmunoelectroforesis**, la mezcla de antígeno se somete primero a electroforesis a fin de separar sus componentes por carga. A continuación se cortan cuencos en el gel de agar paralelos a la dirección del campo eléctrico y se les añade antisuero. Luego el anticuerpo y el antígeno se difunden uno hacia el otro y producen líneas de precipitación donde se encuentran en proporciones apropiadas (fig. 6-7). La inmunoelectroforesis se usa en laboratorios clínicos para detectar la presencia o ausencia de proteínas en el suero. Una muestra de suero se somete a electroforesis y los componentes séricos individuales se identifican con antisueros específicos para una proteína o una clase de inmunoglobulina determinada. Esta técnica es útil para determinar si un paciente produce cantidades anormalmente bajas de uno o más isotipos, características de ciertas enfermedades de inmunodeficiencia. Asimismo puede mostrarse si un paciente produce en exceso cierta proteína sérica, como albúmina, inmunoglobulina o transferrina. El patrón inmunoelectroforético del suero de individuos con mieloma múltiple muestra una gran cantidad de proteína de mieloma. Como la inmunoelectroforesis es una técnica estrictamente *cualitativa* que sólo detecta concentraciones de anticuerpo hasta cierto punto altas (mayores de varios cientos de microgramos por mililitro), su utilidad se limita a la detección de anormalidades cuantitativas sólo cuando la desviación respecto de lo normal es notable, como en los estados de inmunodeficiencia o los trastornos inmunoproliferativos.

Una técnica *cuantitativa* relacionada, la **electroforesis en cohete**, permite medir las concentraciones de antígeno. En este método se somete a electroforesis un antígeno con carga negativa en un gel que contiene anticuerpo. El precipitado que se forma entre el antígeno y el anticuerpo tiene el aspecto de un

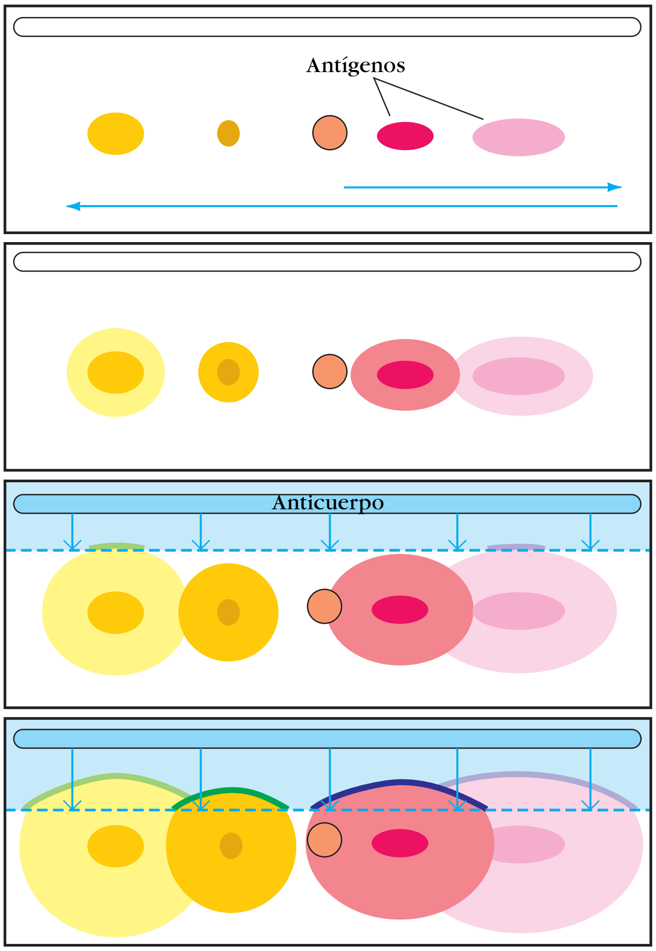


FIGURA 6-7 Inmunoelectroforesis de una mezcla de antígeno. Un preparado de antígeno (anaranjado) se somete primero a electroforesis, que separa los antígenos componentes con base en la carga. Luego se añade antisuero (azul) a cuencos en uno o ambos lados de los antígenos separados y se permite que se difundan; con el tiempo se forman líneas de precipitación (arcos de color) en los que interactúan anticuerpo y antígeno específicos.

cohete, cuya altura es proporcional a la concentración de antígeno en el foso. Una limitación de la electroforesis en cohete es la necesidad de que el antígeno tenga carga negativa para el movimiento electroforético dentro de la matriz de agar. Algunas proteínas, por ejemplo las inmunoglobulinas, no poseen la suficiente carga para analizarse de manera cuantitativa por electroforesis en cohete; tampoco es posible medir las cantidades de varios antígenos en una mezcla al mismo tiempo.

Reacciones de aglutinación

La interacción entre el anticuerpo y un antígeno particulado resulta en un agrupamiento visible llamado **aglutinación**. Los anticuerpos que producen estas reacciones se denominan **aglutininas**. Las reacciones de aglutinación son similares en principio a las reacciones de precipitación; dependen del enlace cruzado de antígenos polivalentes. Del mismo modo en que un exceso de anticuerpo inhibe las reacciones de precipitación, este exceso también puede inhibir las reacciones de aglutinación; tal inhibición se denomina **efecto prozona**. Ya que los efectos prozona pueden encontrarse en muchos tipos de inmunoensayos, comprender la base de este fenómeno tiene importancia general.

Diversos mecanismos pueden causar el efecto prozona. Primero, a concentraciones altas de anticuerpo, el número de sitios de unión de anticuerpo puede exceder en grado considerable el de epítopos. Como resultado, casi todos los anticuerpos se unen a antígeno sólo de manera univalente en lugar de multivalente. Los anticuerpos que se unen de manera univalente no pueden enlazar en forma cruzada un antígeno con otro. Los efectos prozona se diagnostican con facilidad al valorar una diversidad de concentraciones de anticuerpo (o antígeno). Conforme se diluye a una concentración óptima de anticuerpo, se observan valores más altos de aglutinación o cualquier parámetro que se mida en la valoración que se utilice. El efecto prozona también puede ocurrir por otra razón cuando se emplean anticuerpos policlonales. Es posible que el antisuero contenga concentraciones altas de anticuerpo que se unen a antígeno pero no inducen aglutinación; estos anticuerpos, llamados **anticuerpos incompletos**, a menudo son de la clase IgG. A concentraciones altas de IgG, las anticuerpos incompletos pueden ocupar la mayor parte de los sitios antigénicos y bloquear así el acceso de la IgM, que es una buena aglutinina. Este efecto no se presenta con anticuerpos monoclonales aglutinantes. La falta de actividad aglutinante de un anticuerpo incompleto puede deberse a flexibilidad restringida en la región en bisagra, que dificulta que el anticuerpo asuma el ángulo necesario para el enlace cruzado óptimo de epítopos y dos o más antígenos particulados. De otra manera la densidad de la distribución del epítopo o la localización de algunos epítopos en bolsas profundas de un antígeno particular pueden dificultar que los anticuerpos específicos para estos epítopos aglutinen ciertos antígenos particulados. Cuando es factible, la solución a ambos problemas consiste en probar anticuerpos diferentes que pueden reaccionar con otros epítopos del antígeno que no presentan estas limitaciones.

La hemaglutinación se utiliza en la tipificación sanguínea

Para tipificar los glóbulos rojos (GR) o eritrocitos suelen llevarse a cabo reacciones de aglutinación (fig. 6-8). Dado que cada año se realizan decenas de millones de determinaciones de grupo

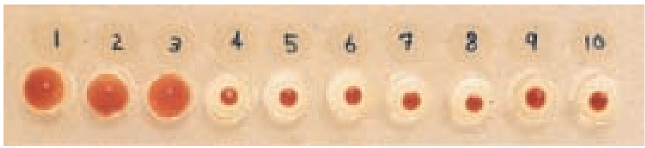


FIGURA 6-8 Demostración de hemaglutinación utilizando anticuerpos contra glóbulos rojos de oveja (SRBC). El tubo testigo (10) sólo contiene SRBC, que se asientan en un "botón" sólido. Los tubos experimentales 1 a 9 contienen un número constante de SRBC más diluciones seriadas al doble de suero anti-SRBC. El patrón de diseminación en la serie experimental indica hemaglutinación positiva en el tubo 3. *[Lousiana State University Medical Center/MIP. Cortesía de Harriet C. W. Thompson.]*

sanguíneo, éste es uno de los inmunoensayos más usados en el mundo. En la tipificación de antígenos ABO, en un portaobjetos se mezclan glóbulos rojos con antisuero contra los antígenos de grupo sanguíneo A o B. Si el antígeno se encuentra en las células, éstas se aglutinan y forman un grumo visible en el portaobjetos. Como verificación adicional, la sangre del donante se examina en busca de anticuerpos contra antígenos ABO. Si el sujeto no presenta anticuerpo contra sus propios antígenos ABO, las determinaciones de células y anticuerpo concuerdan, y se confirma que la tipificación celular es correcta. Si los resultados son discordantes y los ensayos de aglutinación indican que el donante tiene anticuerpos que reaccionan contra sus propios antígenos ABO, entonces hubo un error (es incorrecto el ensayo para células o anticuerpo) o el donante está produciendo anticuerpos contra sí mismo, una manifestación de autoinmunidad (véase el cap. 16). Las muestras que producen resultados discordantes en la verificación no se usan para transfusiones.

La aglutinación bacteriana se emplea para diagnosticar infecciones

Una infección bacteriana suele estimular la producción de anticuerpos séricos específicos para antígenos de superficie en las células bacterianas. La presencia de dichos anticuerpos puede detectarse mediante reacciones de aglutinación bacteriana. El suero de un paciente que se piensa que está infectado con una bacteria determinada se diluye en forma seriada en un conjunto de tubos a los que se añade la bacteria. El último tubo que muestra aglutinación visible refleja el **título** de anticuerpo sérico del paciente. El título de aglutinina se define como el recíproco de la dilución sérica mayor que causa una reacción de aglutinación positiva. Por ejemplo, si se realizan diluciones seriadas dobles de suero y la dilución 1/640 muestra aglutinación pero la 1/1 280 no, entonces el título de aglutinación del suero del paciente es 640. En algunos casos el suero puede diluirse hasta 1/50 000 y aún mostrar aglutinación de bacterias.

El título de aglutinina de un antisuero puede usarse para diagnosticar una infección bacteriana. Por ejemplo, los pacientes con fiebre tifoidea muestran un aumento significativo en el título de aglutinación para *Salmonella typhi*. Las reacciones de aglutinación también constituyen un medio para tipificar bacterias. Por ejemplo, es posible distinguir diferentes especies de la bacteria *Salmonella* mediante reacciones de aglutinación con un grupo de antisueros de tipificación.

La aglutinación pasiva es útil con antígenos solubles

La sensibilidad y la sencillez de las reacciones de aglutinación pueden extenderse a antígenos solubles con la técnica de hemaglutinación pasiva. En este método se preparan glóbulos rojos cubiertos con antígeno mediante la mezcla de un antígeno soluble con los eritrocitos que se trataron con ácido tánico o cloruro de cromo, porque ambas sustancias promueven la adsorción del antígeno a la superficie de las células. El suero que contiene anticuerpo se diluye de manera seriada en fosos de una placa de microtítulos y luego se añaden glóbulos rojos recubiertos con antígeno a cada foso; la aglutinación se valora por el tamaño del patrón de diseminación característico de los glóbulos rojos aglutinados en el fondo del foso, igual que el patrón que se observa en las reacciones de aglutinación (fig. 6-8).

En años recientes ha habido un cambio de glóbulos rojos a partículas sintéticas, como cuentas de látex, como matrices para reacciones de aglutinación. Una vez que el antígeno se acopla a las cuentas de látex, el preparado puede utilizarse de inmediato o guardarse para uso posterior. El empleo de cuentas sintéticas ofrece las ventajas de consistencia, uniformidad y estabilidad. Más aún, las reacciones de aglutinación en que se usan cuentas sintéticas pueden leerse con rapidez, a menudo en el transcurso de los 3 a 5 min que siguen al mezclado de las cuentas con la muestra en estudio. Ya sea que se basen en glóbulos rojos o en las cuentas sintéticas, más convenientes y versátiles, las reacciones de aglutinación son sencillas de realizar, no requieren equipo costoso y detectan cantidades pequeñas de anticuerpo (concentraciones tan bajas como nanogramos por mililitro).

En la inhibición de la aglutinación, la ausencia de aglutinación es diagnóstica de antígeno

Una variante de la reacción de aglutinación, llamada **inhibición de la aglutinación**, constituye un ensayo muy sensible para cantidades pequeñas de antígeno. Las pruebas de inhibición de la aglutinación también permiten determinar si una persona utiliza ciertos tipos de drogas ilegales, como cocaína y heroína. Primero se incuba una muestra de orina o de sangre con anticuerpo específico para la droga que se sospecha. A continuación se añaden partículas recubiertas con la droga. Si el anticuerpo no aglutina las partículas ello indica que la muestra contiene un antígeno que reconoció el anticuerpo y sugiere que el individuo utiliza la droga ilícita. Un problema con estas pruebas es que algunas drogas legales tienen estructuras químicas similares a las de las ilícitas, pueden reaccionar de forma cruzada con el anticuerpo y producir una reacción positiva falsa. Por este motivo es necesario confirmar una reacción positiva con un método no inmunitario.

Las pruebas de inhibición de la aglutinación se usan con amplitud en los laboratorios clínicos para determinar si una persona se expuso a ciertos tipos de virus que causan aglutinación de glóbulos rojos. Si el suero de una persona contiene anticuerpos antivíricos específicos, entonces los anticuerpos se unen al virus e interfieren con la hemaglutinación por el virus. Esta técnica suele emplearse en pruebas premaritales para determinar el estado inmunitario de las mujeres con respecto al virus de la rubéola. El recíproco de la última dilución sérica que muestra inhibición de hemaglutinación de rubéola es el título del suero. Un título mayor de 10 (dilución 1:10) indica que una mujer es inmune a la rubéola, en tanto que un título menor de 10 refleja falta de inmunidad y la necesidad de inmunización con vacuna de rubéola.

Radioinmunoensayo

Una de las técnicas más sensibles para detectar antígeno o anticuerpo es el **radioinmunoensayo (RIA)**. Fue desarrollada originalmente en 1960 por dos endocrinólogos, S. A. Berson y Rosalyn Yalow, para determinar las concentraciones de complejos de insulina y antiinsulina en diabéticos. Aunque su técnica fue recibida con algún escepticismo, pronto demostró su valor para medir hormonas, proteínas séricas, fármacos y vitaminas a concentraciones de 0.001 *microgramos* por mililitro o menos. La importancia de la técnica se reconoció en 1977, unos años después de morir Berson, por la adjudicación de un premio Nobel a Yalow.

El principio del RIA implica la unión competitiva de antígeno radiomarcado y antígeno no marcado a un anticuerpo de alta afinidad. El antígeno marcado se mezcla con anticuerpo a una concentración que satura los sitios de unión a antígeno del anticuerpo. En seguida se añaden en cantidades crecientes las muestras de antígeno no marcado de concentración desconocida. El anticuerpo no distingue el antígeno marcado del no marcado, por lo que los dos tipos de antígeno compiten por los sitios de unión disponibles en el anticuerpo. Conforme la concentración de antígeno no marcado aumenta, más antígeno con la marca radiactiva es desplazado de los sitios de unión. El decremento de la cantidad de antígeno radiomarcado que se une al anticuerpo específico en presencia de la muestra en estudio se mide para determinar la cantidad de antígeno que esta última contiene.

Por lo general el antígeno se marca con un isótopo emisor de partículas γ como ^{125}I, pero también suelen emplearse como marcas isótopos de emisión β como el tritio (^{3}H). El antígeno radiomarcado es parte de la mezcla de valoración; la muestra de estudio puede ser alguna compleja, como suero u otros líquidos corporales, que contiene el antígeno no marcado. La primera etapa para llevar a cabo un RIA es determinar la cantidad de anticuerpo necesario para unir 50 a 70% de la cantidad fija de antígeno radiactivo (Ag*) en la mezcla por valorar. Esta relación de anticuerpo con Ag* se eligió para asegurar que la cantidad de epítopos que el antígeno marcado presenta siempre exceda el número total de sitios de unión de anticuerpo. En consecuencia, el antígeno no marcado que se agrega a la mezcla de estudio compite con el antígeno radiomarcado por el suministro limitado de anticuerpo. Incluso una cantidad pequeña de antígeno sin marca añadido a la mezcla de antígeno marcado y anticuerpo en estudio origina un descenso en la cantidad de antígeno radiactivo unido, y esta disminución es proporcional a la cuantía del antígeno no marcado añadido. Con objeto de determinar la cantidad de antígeno marcado unida, el complejo Ag-Ab se precipita para separarlo del antígeno libre (antígeno no unido a anticuerpo) y se mide la radiactividad en el precipitado. Puede generarse una curva estándar utilizando muestras de antígeno no marcado de concentración conocida (en lugar de la muestra de estudio), y a partir de esta gráfica es posible determinar con precisión la cantidad de antígeno en la mezcla de estudio.

Se han desarrollado varios métodos para separar antígeno unido de antígeno libre en RIA. Uno de ellos incluye la precipitación del complejo Ag-Ab con un antisuero antiisotipo secundario. Por ejemplo, si el complejo Ag-Ab contiene anticuerpo IgG de conejo, entonces la IgG anticonejo de cabra se une a la IgG de conejo y precipita el complejo. En otro método se utiliza el hecho de que la proteína A de *Staphylococcus aureus* tiene alta afinidad por la inmunoglobulina G (IgG). Si el complejo Ag-Ab contiene un anticuerpo IgG, el complejo puede precipitarse mezclándolo con *S. aureus* muerto con formalina. Tras eliminar el complejo por cualesquiera de estos métodos es posible medir la cantidad de antígeno marcado libre que queda en el sobrenadante con un contador de radiación; la sustracción de este valor de la cantidad total de antígeno marcado añadido proporciona la cantidad de antígeno marcado unido.

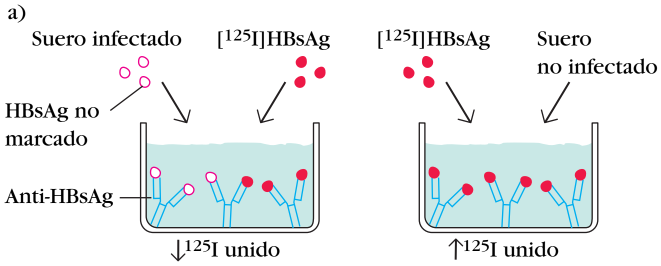
Se han creado diversos RIA de fase sólida que hacen más fácil separar el complejo Ag-Ab del antígeno no unido. En algunos casos el anticuerpo se une por enlaces cruzados covalentes a cuentas de Sepharose. La cantidad de antígeno radiomarcado unido a las cuentas puede medirse después de centrifugar y lavar estas últimas. De modo alternativo el anticuerpo se inmoviliza en fosos de poliestireno o policloruro de vinilo y la cantidad de antígeno marcado libre en el sobrenadante se determina en un contador de radiación. En otro método se inmoviliza el anticuerpo en las paredes de los fosos de microtítulo y se determina la cantidad de antígeno unido. Ya que el procedimiento sólo requiere cantidades pequeñas de la muestra y puede realizarse en placas de microtítulo pequeñas de 96 fosos (un poco más grandes que una tarjeta de 3 × 5), este procedimiento resulta muy adecuado para determinar la concentración de un antígeno particular en un gran número de muestras. Por ejemplo, el RIA de microtítulo se utiliza con amplitud para detectar la presencia de virus de hepatitis B (fig. 6-9). El RIA de la sangre del donante reduce mucho la incidencia de infecciones por hepatitis B en receptores de transfusiones sanguíneas.

Ensayo de inmunosorbente ligado a enzima

El **ensayo de inmunosorbente ligado a enzima**, que suele conocerse como **ELISA** (o EIA), es similar en principio al RIA pero depende de una enzima en lugar de un marcador radiactivo. Una enzima conjugada con un anticuerpo reacciona con un sustrato incoloro para generar un producto con reacción de color. Ese sustrato se denomina **sustrato cromógeno**. Para ELISA se utilizan varias enzimas, como fosfatasa alcalina, peroxidasa de rábano picante y β-galactosidasa. Estas pruebas tienen sensibilidad comparable a los RIA y la ventaja de ser más seguras y menos costosas.

Existen múltiples variantes de ELISA

Se cuenta con algunas variaciones de ELISA que permiten la detección cualitativa o la medición cuantitativa de antígeno o anticuerpo. Cada tipo de ELISA puede usarse de manera cualitativa para detectar la presencia de anticuerpo o antígeno. De manera alternativa, se realiza una curva estándar con base en concentraciones conocidas de anticuerpo o antígeno, a partir de la cual es posible determinar la concentración desconocida de una muestra.



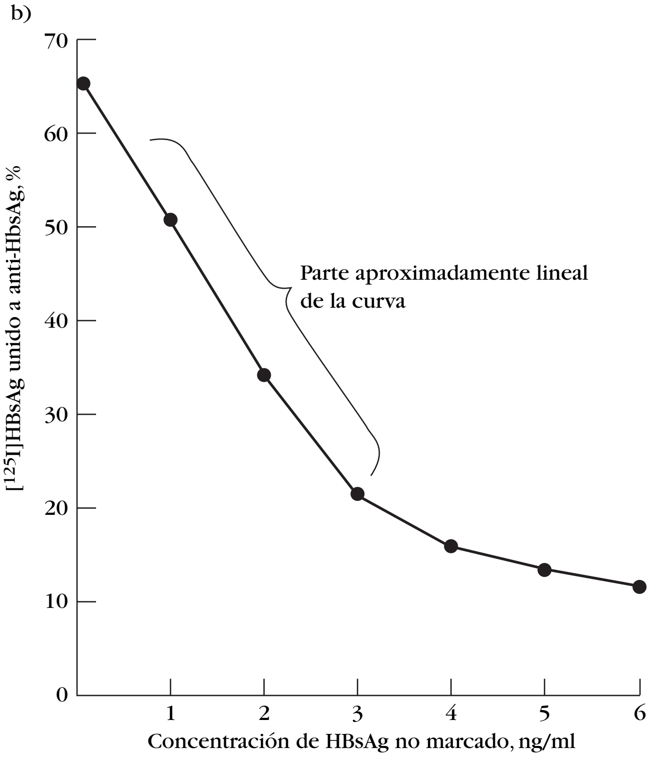


FIGURA 6-9 Radioinmunoensayo (RIA) de fase sólida para detectar virus de hepatitis B en muestras de sangre. a) Fosos de microtítulo se cubren con una cantidad constante de anticuerpo específico para HbsAg, el antígeno de superficie en viriones de hepatitis B. A continuación se añaden una muestra de suero y $[^{125}I]$HBsAg. Tras la incubación, el sobrenadante se extrae y la radiactividad de los complejos antígeno-anticuerpo se mide. Si la muestra está infectada, la cantidad del marcador unido es menor que en los testigos con suero no infectado. b) Se obtiene una curva estándar añadiendo concentraciones crecientes de HbsAg no marcado a una cantidad fija de $[^{125}I]$HBsAg y anticuerpo específico. La gráfica de porcentaje de antígeno marcado unido contra concentración de antígeno no marcado permite determinar la concentración de HBsAg en muestras de suero desconocidas mediante el uso de la parte lineal de la curva.

ELISA indirecto

Por medio de ELISA indirecto puede detectarse anticuerpo o determinarse de modo cuantitativo (fig. 6-10a). Suero o alguna otra muestra que contenga el anticuerpo primario (Ab_1) se añade a un foso de microtítulo recubierto con antígeno y se permite que reaccione con el antígeno unido al foso. Después de eliminar por lavado cualquier Ab_1 libre, la presencia de anticuerpo unido a antígeno se detecta mediante la adición de un anticuerpo secundario (Ab_2) conjugado con enzima, que se une al anticuerpo primario. A continuación se elimina por lavado cualquier Ab_2 libre y se añade un sustrato para la enzima. La cantidad de producto de la reacción de color que se forma se mide con lectores espectrofotométricos de placa especializados, que pueden medir la absorbancia de la totalidad de los fosos de una placa de 96 fosos en segundos.

El ELISA indirecto es el método de elección para detectar la presencia de anticuerpos séricos contra el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), el agente causal del síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). En esta prueba, proteínas recombinantes de la envoltura y del núcleo del VIH se adsorben como antígenos en fase sólida a fosos de microtítulo. Las personas infectadas con VIH producen anticuerpos séricos contra epítopos en estas proteínas víricas. Por lo general, el ELISA indirecto permite detectar anticuerpos séricos contra VIH desde las primeras seis semanas de una infección.

ELISA en sándwich

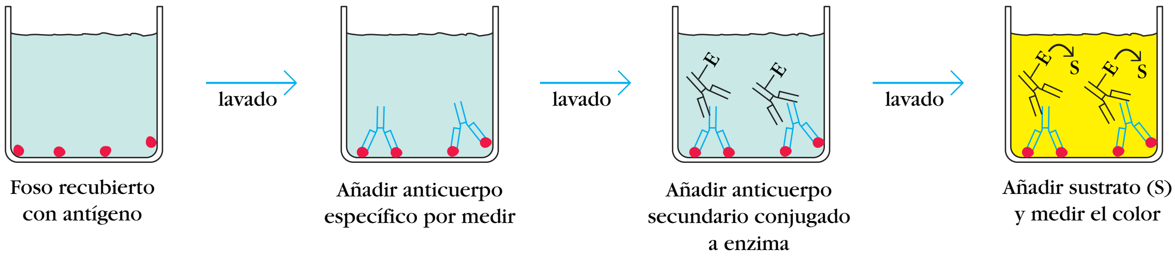
Es posible detectar o medir antígeno mediante ELISA en sándwich (fig. 6-10b). En esta técnica, el anticuerpo (en lugar del antígeno) se inmoviliza en un foso de microtítulo. Se añade una muestra que contiene antígeno y se deja reaccionar con el anticuerpo inmovilizado. Después de lavar el foso, se agrega un segundo anticuerpo ligado a enzima específico para un epítopo distinto del antígeno y se permite que reaccione con el antígeno unido. Tras eliminar cualquier segundo anticuerpo libre mediante lavado, se añade sustrato y se mide el producto de la reacción de color.

ELISA competitivo

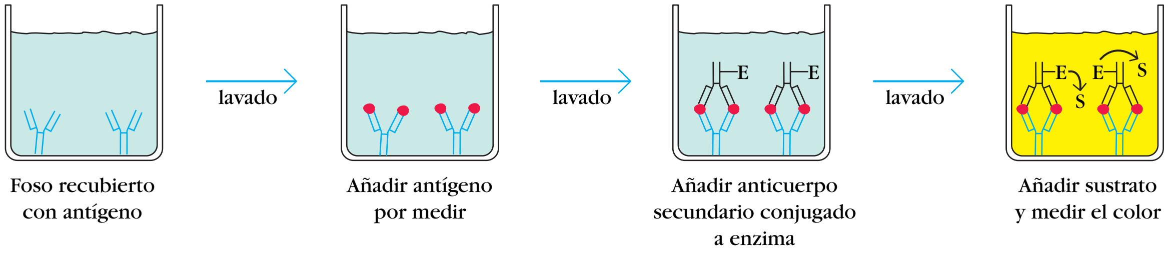
El método de ELISA competitivo es otra variante para medir cantidades de antígeno (fig. 6-10c). En esta técnica se incuba primero anticuerpo en solución con una muestra que contiene antígeno. Después la mezcla de antígeno y anticuerpo se añade a un foso de microtítulo recubierto con antígeno. Cuanto más antígeno se encuentra en la muestra, tanto menos anticuerpo libre está disponible para unirse al foso recubierto con antígeno. La adición de un anticuerpo secundario (Ab_2) conjugado con la enzima específico para el isotipo de un anticuerpo primario puede utilizarse para determinar la cantidad de anticuerpo primario unido al foso como en un ELISA indirecto. Sin embargo, en la prueba competitiva cuanto más alta es la concentración de antígeno en la muestra original tanto más baja es la absorción.

Quimioluminiscencia

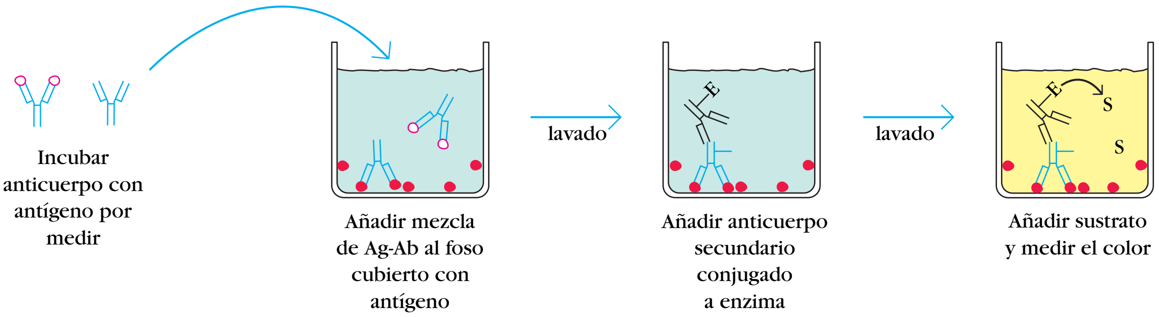
La luz que se produce por quimioluminiscencia durante determinadas reacciones químicas constituye una alternativa conveniente y muy sensible para las mediciones de absorbancia en ELISA. Las versiones de ELISA que recurren a la quimioluminiscencia usan un sustrato luxógeno (que genera luz) en lugar del sustrato cromógeno de las reacciones ELISA ordinarias. Por ejemplo, la oxidación del compuesto luminol por H_2O_2 y la enzima peroxidasa de rábano picante (HRP) produce luz:


a) ELISA indirecto

lavado
lavado
lavado
E
E
S
S
Foso recubierto con antígeno
Añadir anticuerpo específico por medir
Añadir anticuerpo secundario conjugado a enzima
Añadir sustrato (S) y medir el color


b) ELISA en sándwich

lavado
lavado
lavado
E
E
S
S
Foso recubierto con antígeno
Añadir antígeno por medir
Añadir anticuerpo secundario conjugado a enzima
Añadir sustrato y medir el color


c) ELISA competitiva

lavado
lavado
E
S
S
Incubar anticuerpo con antígeno por medir
Añadir mezcla de Ag-Ab al foso cubierto con antígeno
Añadir anticuerpo secundario conjugado a enzima
Añadir sustrato y medir el color

FIGURA 6-10 Las variaciones en la técnica del ensayo de inmunosorbente ligado a enzima (ELISA) permiten determinar anticuerpo o antígeno. Cada prueba puede utilizarse de manera cualitativa o cuantitativa mediante la comparación con curvas estándar elaboradas con concentraciones conocidas de anticuerpo o antígeno. El anticuerpo puede determinarse con ELISA indirecto (a), en tanto que el antígeno puede determinarse por ELISA en sándwich (b) o ELISA competitivo (c). En este último, que es un ensayo tipo inhibición, la concentración de antígeno es inversamente proporcional al color que se produce.

$$\text{Ab-HRP} + \text{Ag} \longrightarrow \text{Ab-HRP-Ag} \xrightarrow{\text{luminol} + H_2O_2} \text{luz}$$

La luz que se genera durante las reacciones luxógenas puede detectarse en virtud de su capacidad de exponer película fotográfica. La medición cuantitativa de la emisión de luz puede hacerse por medio de un luminómetro. La ventaja de las pruebas de quimioluminiscencia sobre las cromógenas es la mejoría de la sensibilidad. En general el límite de detección puede incrementarse cuando menos 10 veces si se cambia de un sustrato cromógeno a uno luxógeno, y más de 200 veces cuando se adicionan agentes de realce. De hecho, en condiciones ideales se detectan apenas 5×10^{-18} moles (5 attomoles) de antígeno blanco.

Prueba ELISPOT

Una modificación de la prueba ELISA llamada ELISPOT permite la detección cuantitativa del número de células en una población que produce anticuerpos específicos contra un antígeno determinado o un antígeno contra el que se dispone de un anticuerpo específico (fig. 6-11). En este método las placas se recubren con el antígeno (antígeno de captura) reconocido por el anticuerpo de interés o con el anticuerpo (anticuerpo de captura) específico para el antígeno cuya producción se valora. Luego se añade a las placas recubiertas una suspensión de la población celular que se investiga y se incuba. Las células se asientan en la superficie de la placa, y las moléculas secretadas reactivas a las moléculas de captura son unidas en la cercanía de las células secretorias, lo que produce un anillo de complejos antígeno-anticuerpo alrededor de cada célula que sintetiza la molécula de interés. A continuación la placa se lava y un anticuerpo unido a enzima específico para el antígeno secretado o para la especie (p. ej., anticonejo de cabra) del anticuerpo secretado se añade y deja unir. El revelado ulterior del ensayo por la adición de un sustrato cromógeno o luxógeno adecuado indica la posición de cada célula productora de anticuerpo o de antígeno como un punto de color o luz.

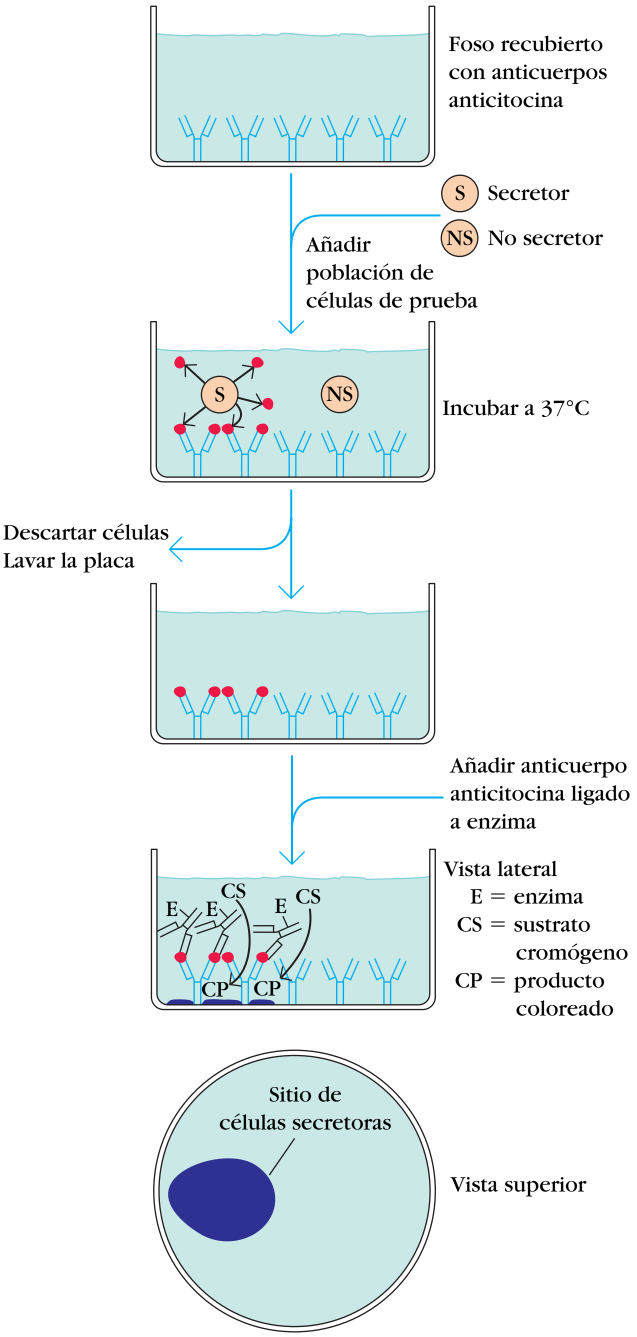


FIGURA 6-11 En la prueba ELISPOT, un foso se recubre con anticuerpo contra el antígeno de interés, en este ejemplo una citocina; luego una capa de una suspensión de la población celular que se piensa que contiene algunos miembros que sintetizan y secretan la citocina se coloca en el fondo del foso y se incuba. La mayoría de las moléculas de citocina secretadas por una célula particular reacciona con los anticuerpos cercanos unidos al foso. Después del período de incubación, se lava el foso y se añade un anticuerpo anticitocina marcado con enzimas. Tras eliminar por lavado el anticuerpo no unido, se añade un sustrato cromógeno que forma un producto insoluble de color. Este último (púrpura) se precipita y forma una mancha sólo en las áreas del foso en que se depositaron células que secretan citocina. El recuento de las manchas de colores permite determinar cuántas células que secretaban citocina estaban presentes en la suspensión celular adicionada.

Western blotting

Es posible la identificación de una proteína específica en una mezcla compleja de proteínas mediante una técnica conocida como **Western blotting**, así denominada por su similitud con Southern blotting, que detecta fragmentos de DNA, y con Northern blotting, que detecta mRNA. En la Western blotting, una mezcla de proteínas se separa por medios electroforéticos en un **gel de SDS-poliacrilamida (SDS-PAGE)**, un gel en placa con infusión de dodecilsulfato sódico (SDS), un agente de disociación (fig. 6-12). Las bandas de proteínas se transfieren a una membrana de nitrocelulosa mediante electroforesis, y las bandas individuales de proteína se identifican al inundar la membrana de nitrocelulosa con anticuerpo policlonal o monoclonal radiomarcado o unido a enzimas específico para la proteína de interés. Los complejos Ag-Ab que se forman en la banda que contiene la proteína reconocida por el anticuerpo pueden visualizarse de diversos modos. Si un anticuerpo radiactivo se unió a la proteína de interés, es posible determinar su posición en la mancha (*blot*) exponiendo una placa de rayos X a la membrana, un procedimiento que se conoce como autorradiografía. Sin embargo, en los procedimientos de detección que más se usan suelen emplearse anticuerpos unidos a enzima contra la proteína. Tras la unión del conjugado de enzima y anticuerpo, la adición de un sustrato cromógeno que produce un producto de color intenso e insoluble origina la aparición de una banda de color en el sitio del antígeno blanco. Puede lograrse una sensibilidad mucho más alta si se usa un compuesto quimioluminiscente aunado a agentes de realce adecuados para producir luz en el sitio del antígeno.

La técnica de Western blotting también puede identificar un anticuerpo específico en una mezcla. En este caso los antígenos conocidos de peso molecular bien definido se separan mediante SDS-PAGE y transfieren a nitrocelulosa. Las bandas separadas de antígenos conocidos se prueban luego con la muestra que se sospecha contiene anticuerpo específico para uno o más de estos antígenos. La reacción de un anticuerpo con una banda se detecta mediante el empleo de anticuerpo secundario radiomarcado o ligado a enzima específico para la especie de los anticuerpos en la muestra en estudio. La aplicación más amplia de este procedimiento es como prueba de confirmación de VIH, donde la Western blotting se utiliza para determinar si el paciente tiene anticuerpos que reaccionan con una o más proteínas víricas.

Inmunoprecipitación

La técnica de inmunoprecipitación tiene la ventaja de permitir el aislamiento del antígeno de interés para un análisis más amplio. Asimismo constituye una prueba sensible para la presencia de un antígeno particular en un tipo de célula o tejido determinado. Un extracto obtenido por rotura de células o tejidos se mezcla con un anticuerpo contra el antígeno de interés a fin de formar un complejo antígeno-anticuerpo que se precipitará. Sin embargo, si la concentración de antígeno es baja (lo que a menudo es el caso en extractos de células y tejidos), el ensamblaje de los complejos antígeno-anticuerpo en precipitados puede requerir horas e incluso días, y es difícil aislar la pequeña cantidad de inmunoprecipitado que se forma.

Se cuenta con varias maneras de evitar estas limitaciones. Una consiste en unir el anticuerpo a un apoyo sólido, como una cuenta sintética, que permite reunir el complejo antígeno-anticuerpo mediante centrifugación. Otra es agregar un anticuerpo secundario específico para el anticuerpo primario con objeto de unir los complejos antígeno-anticuerpo. Si el anticuerpo secundario se une a una cuenta, los inmunocomplejos pueden colectarse mediante centrifugación. Una versión particularmente ingeniosa de este procedimiento incluye el acoplamiento del anticuerpo secundario a cuentas magnéticas. Después de que los anticuerpos secundario y primario se unen, los inmunoprecipitados se colectan colocando un imán contra un lado del tubo (fig. 6-13).

Cuando se utiliza en conjunto con el marcado biosintético con radioisótopo, la inmunoprecipitación también permite determinar si en realidad una célula o tejido sintetiza un antígeno particular. El radiomarcado de las proteínas que las células de interés producen puede efectuarse cultivando las células en un medio que contiene uno o más aminoácidos radiomarcados. Por lo general los aminoácidos que se usan para esta aplicación son los más resistentes a modificaciones metabólicas, como leucina, cisteína o metionina. Después de que las células proliferan en el medio radiactivo, se lisan y someten a un anticuerpo primario específico para el antígeno de interés. El complejo Ag-Ab se colecta mediante inmunoprecipitación, se limpia de aminoácido radiomarcado no incorporado y otras impurezas por lavado, y a continuación se analiza. El complejo puede cuantificarse en un contador de centelleo para obtener una determinación cuantitativa de la cantidad de proteína sintetizada. A menudo el análisis adicional incluye la alteración del complejo, casi siempre con SDS y calor, de manera que sea posible confirmar la identidad del antígeno inmunoprecipitado controlando que su peso molecular sea el esperado para el antígeno de interés. Esto se realiza por separación del complejo alterado mediante SDS-PAGE y autorradiografía subsecuente para identificar la posición del antígeno radiomarcado en el gel.

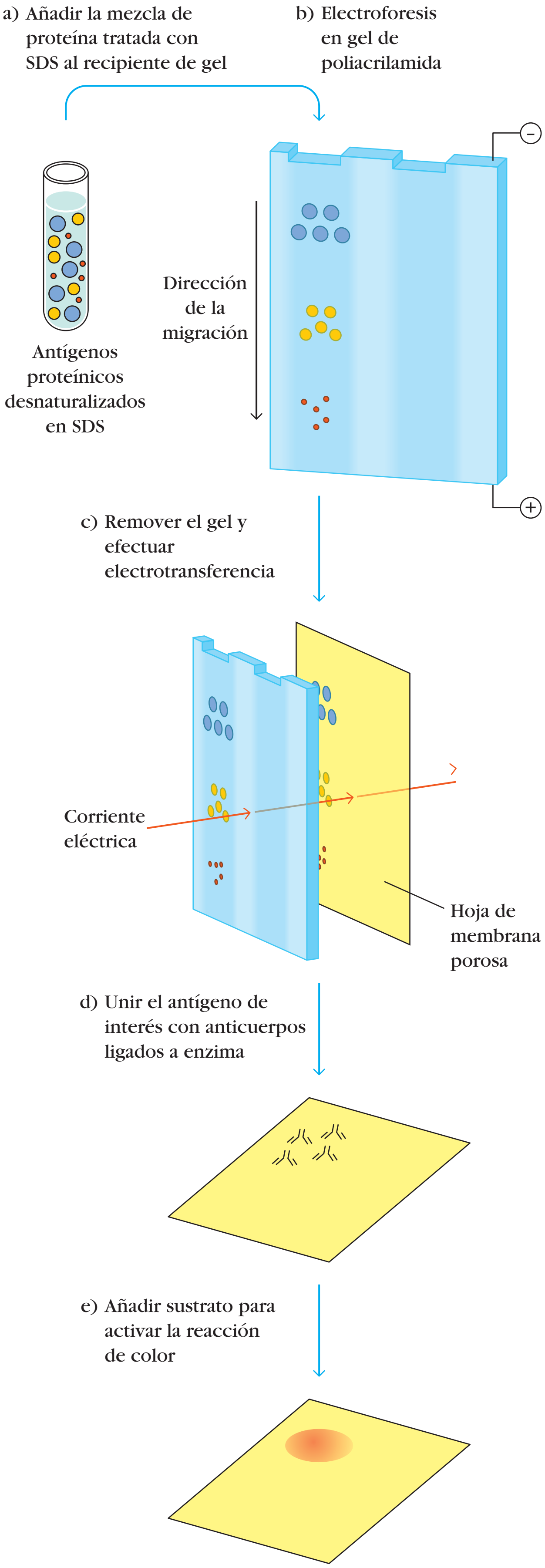
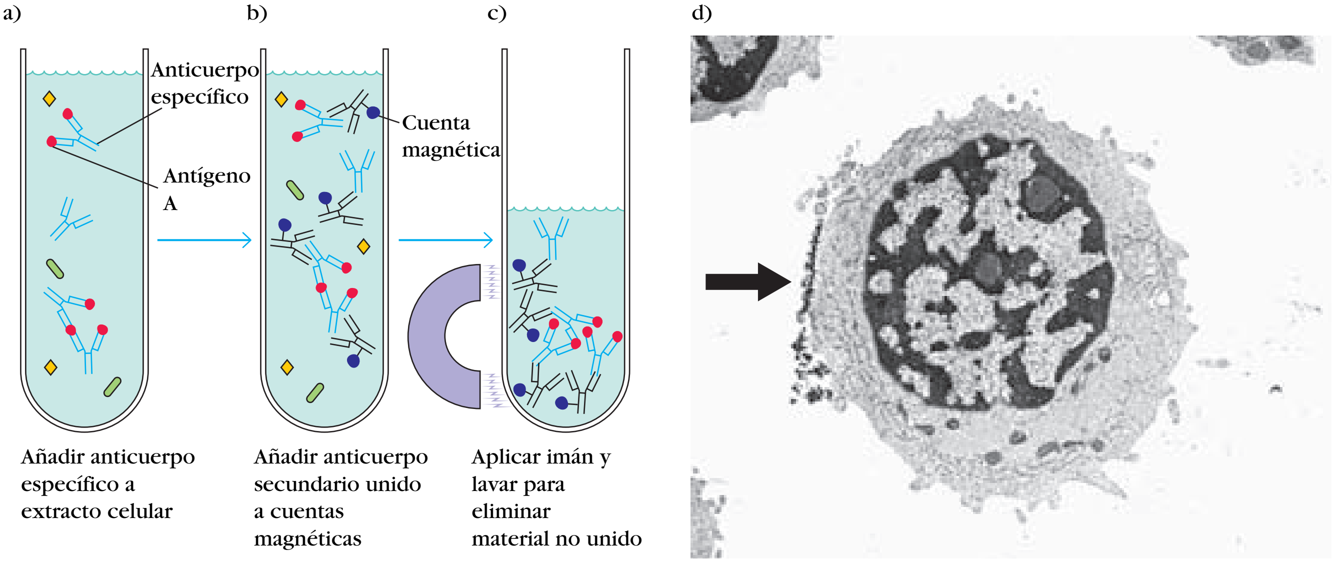

a) Añadir la mezcla de proteína tratada con SDS al recipiente de gel
b) Electroforesis en gel de poliacrilamida
–
Dirección de la migración
Antígenos proteínicos desnaturalizados en SDS
+
c) Remover el gel y efectuar electrotransferencia
Corriente eléctrica
Hoja de membrana porosa
d) Unir el antígeno de interés con anticuerpos ligados a enzima
e) Añadir sustrato para activar la reacción de color

FIGURA 6-12 En la técnica de Western blotting, una mezcla proteínica a) se trata con SDS, un detergente desnaturalizador potente, b) luego se separa mediante electroforesis en un gel de SDS-poliacrilamida (SDS-PAGE) que discrimina los componentes según su peso molecular; los componentes de peso molecular más bajo migran más rápido que los de peso molecular más alto. c) El gel se retira del aparato y se aplica a una hoja de nitrocelulosa o nylon que une proteínas, y las proteínas y el gel se transfieren a la hoja mediante el paso de una corriente eléctrica. d) La adición de anticuerpos unidos a enzima detecta el antígeno de interés y e) la posición de los anticuerpos se observa mediante una reacción ELISA que genera un producto insoluble de color intenso el cual se deposita en el sitio de la reacción. De otra manera puede utilizarse un ELISA quimioluminiscente para generar luz que se detecta con facilidad al exponer una pieza de película fotográfica a la *blot* (mancha).



Añadir anticuerpo específico a extracto celular

Añadir anticuerpo secundario unido a cuentas magnéticas

Aplicar imán y lavar para eliminar material no unido

FIGURA 6-13 Los inmunoprecipitados pueden colectarse utilizando cuentas magnéticas acopladas a un anticuerpo secundario. a) El tratamiento de un extracto celular que contiene antígeno A (rojo) con un anticuerpo anti-A de ratón (azul) da por resultado la formación de complejos antígeno-anticuerpo. b) La adición de cuentas magnéticas a las que se unió antígeno antirratón de conejo se unen a los complejos antígeno-anticuerpo (y cualquier Ig de ratón no reactiva). c) La colocación de un imán contra el lado del tubo permite colectar con rapidez los complejos antígeno-anticuerpo. Después de lavar para eliminar cualquier material no unido, los complejos antígeno-anticuerpo pueden disociarse y el antígeno estudiarse. d) Micrografía electrónica que muestra una célula con cuentas magnéticas unidas a su superficie mediante anticuerpos. *[Parte d, P. Groscurth, Instituto de Anatomía, Universidad de Zurich-Irchel.]*

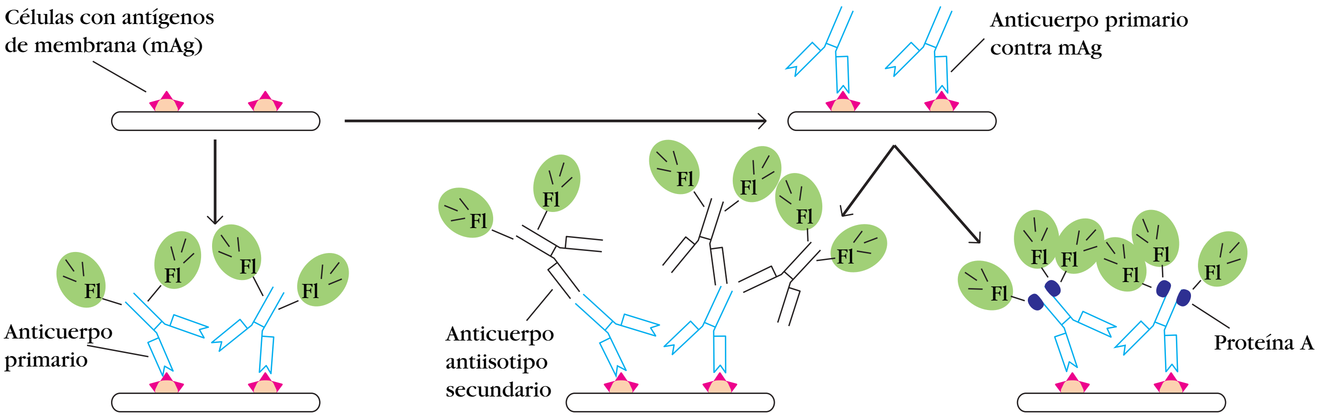
Inmunofluorescencia

En 1944 Albert Coons mostró que era factible marcar los anticuerpos con moléculas que tienen la propiedad de la fluorescencia. Las moléculas fluorescentes absorben luz de una longitud de onda (excitación) y emiten luz de otra longitud de onda (emisión). Si las moléculas de anticuerpo se marcan con un colorante fluorescente, o **fluorocromo**, los complejos inmunitarios que contienen estos anticuerpos marcados con fluorescencia (FA) pueden detectarse por la emisión de luz de color cuando se excitan con una luz de longitud de onda apropiada. Es posible observar de manera similar moléculas de anticuerpo unidas a antígenos en células o cortes de tejido. La luz emitida puede verse con un microscopio de fluorescencia, que está equipado con una fuente de luz UV. En esta técnica, que se conoce como **inmunofluorescencia**, suelen emplearse compuestos fluorescentes, como fluoresceína y rodamina, pero también otras sustancias muy fluorescentes, por ejemplo ficoeritrina, un pigmento de color muy intenso y muy fluorescente obtenido de algas. Estas moléculas pueden conjugarse con la región Fc de una molécula de anticuerpo sin afectar la especificidad de éste. Cada uno de los fluorocromos que se mencionan a continuación absorbe luz en una longitud de onda y emite luz a una longitud de onda más larga:

- **Fluoresceína**, un colorante orgánico que es el marcador más utilizado para procedimientos de inmunofluorescencia, absorbe luz azul (490 nm) y emite una fluorescencia verde-amarillo intensa (517 nm).
- **Rodamina**, otro colorante orgánico, absorbe en el intervalo del verde y el amarillo (515 nm) y emite una fluorescencia roja intensa (546 nm). Ya que emite fluorescencia en una longitud de onda más larga que la fluoresceína, puede usarse en pruebas de inmunofluorescencia de dos colores. Un anticuerpo específico para un determinante se marca con fluoresceína y un anticuerpo que reconoce un antígeno distinto, con rodamina. La localización del anticuerpo marcado con fluoresceína es visible por su color verde amarillo, fácil de distinguir del rojo que se emite donde el anticuerpo marcado con rodamina se unió. La conjugación de fluoresceína a un anticuerpo y la de rodamina a otro anticuerpo permite, por ejemplo, ver al mismo tiempo dos antígenos de membrana celular diferentes en la misma célula.
- **Ficoeritrina** absorbe luz de manera eficiente (~30 veces más que la fluoresceína) y es un emisor brillante de fluorescencia roja, lo cual la hace de uso amplio como un marcador de inmunofluorescencia.

La tinción con anticuerpo fluorescente de moléculas de la membrana celular o de cortes de tejido puede ser directa o indirecta (fig. 6-14). En la **tinción directa** el anticuerpo específico (el anticuerpo primario) se conjuga directamente con fluoresceína; en la **tinción indirecta** el anticuerpo primario no se marca y se detecta con un reactivo adicional marcado con fluorocromo. Se han desarrollado varios reactivos para la tinción indirecta. El más usual es un anticuerpo secundario marcado con fluorocromo formado en una especie contra anticuerpos de otra especie, como la inmunoglobulina antirratón de cabra marcada con fluoresceína.

La tinción de inmunofluorescencia indirecta tiene dos ventajas sobre la tinción directa. Primera, no es necesario conjugar el anticuerpo primario con un fluorocromo. Puesto que la dotación de anticuerpo primario suele ser un factor limitante, los métodos indirectos evitan la pérdida de anticuerpo que suele ocurrir


Células con antígenos de membrana (mAg)
Anticuerpo primario contra mAg
Fl
Anticuerpo primario
Anticuerpo antiisotipo secundario
Proteína A

a) Método directo con anticuerpo marcado con fluorocromo contra mAg

b) Método indirecto con anticuerpo antiisotipo marcado con fluorocromo

c) Método indirecto con proteína A marcada con fluorocromo

d)

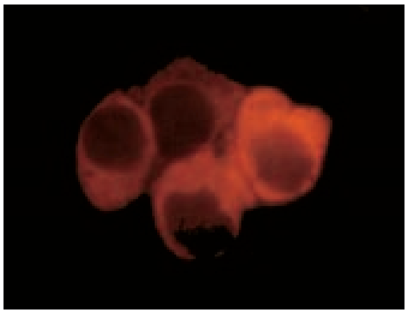


FIGURA 6-14 Tinción por inmunofluorescencia directa e indirecta de antígeno de membrana (mAg). Las células se fijan a un portaobjetos de microscopio. En el método directo (a), las células se tiñen con anticuerpo anti-mAg marcado con un fluorocromo (Fl). En los métodos indirectos (b y c), se incuban primero las células con anticuerpo anti-mAg no marcado y luego se tiñen con un reactivo secundario marcado con fluorocromo que se une al anticuerpo primario. Las células se observan bajo un microscopio de fluorescencia para ver si se tiñeron. d) En esta micrografía, moléculas de anticuerpo que llevaban cadenas pesadas μ se detectaron mediante la tinción indirecta de células con un segundo anticuerpo conjugado con rodamina. *[Parte d, H. A. Schreuder et al. 1997, Nature **386:**196. Cortesía de H. Schreuder, Hoechst Marion Roussel.]*

durante la reacción de conjugación. Segunda, los métodos indirectos aumentan la sensibilidad de tinción porque múltiples moléculas del reactivo fluorocromo se unen a cada molécula de anticuerpo primario, lo que incrementa la cantidad de luz que se emite en la localización de cada molécula de anticuerpo primario.

La inmunofluorescencia se ha aplicado para identificar varias subpoblaciones de linfocitos, en especial las de células T CD4$^+$ y CD8$^+$. La técnica también es adecuada para identificar especies bacterianas, detectar complejos Ag-Ab en enfermedad autoinmunitaria, descubrir componentes del complemento en tejidos y localizar hormonas y otros productos celulares teñidos in situ. De hecho, una aplicación mayor de la técnica de anticuerpo fluorescente es la localización de antígenos en cortes de tejido o en compartimientos subcelulares. Como puede utilizarse para mapear la localización real de antígenos blanco, la microscopia de fluorescencia es un instrumento potente para relacionar la arquitectura molecular de los tejidos y órganos con su anatomía macroscópica global.

Citometría de flujo y fluorescencia

Las técnicas de anticuerpos fluorescentes descritas son instrumentos cualitativos extremadamente valiosos, pero no proporcionan datos cuantitativos. Este inconveniente se eliminó con el desarrollo del citómetro de flujo, que se diseñó para automatizar el análisis y la separación de células teñidas con anticuerpo fluorescente. El citómetro de flujo recurre a un rayo láser y un detector de luz para contar células intactas aisladas en suspensión (fig. 6-15). Cada vez que una célula pasa por el rayo láser, la luz del detector se desvía y esta interrupción de la señal láser se registra. El láser excita las células que tienen un anticuerpo marcado con fluorescencia unido a sus antígenos de superficie celular, de modo que emiten luz que un segundo sistema detector localizado en ángulo recto con el haz láser registra. La forma más sencilla del instrumento cuenta cada célula cuando pasa por el haz láser, y registra el grado de fluorescencia que la célula emite; una computadora conectada al sistema genera gráficas del número de células como coordenadas y su intensidad de fluorescencia como abscisas. Las versiones más complicadas del instrumento son capaces de seleccionar poblaciones de células en diferentes contenedores según su perfil de fluorescencia. El uso del instrumento para determinar qué población celular y cuántos de sus miembros unen anticuerpos marcados con fluorescencia se denomina *análisis*; el empleo del instrumento para colocar células que tienen diferentes patrones de reactividad en contenedores distintos se denomina *clasificación celular*.

El citómetro de flujo tiene múltiples aplicaciones en problemas clínicos y de investigación. Un uso clínico frecuente consiste en determinar el grupo y el número de glóbulos blancos en muestras de sangre. El tratamiento de muestras de sangre procesadas de manera apropiada con un anticuerpo marcado con fluorescencia y el análisis citométrico de flujo permiten obtener la siguiente información:

- *¿Cuántas células expresan el antígeno blanco como un número absoluto y también como porcentaje de las células que pasan por el haz?* Por ejemplo, si se utiliza un

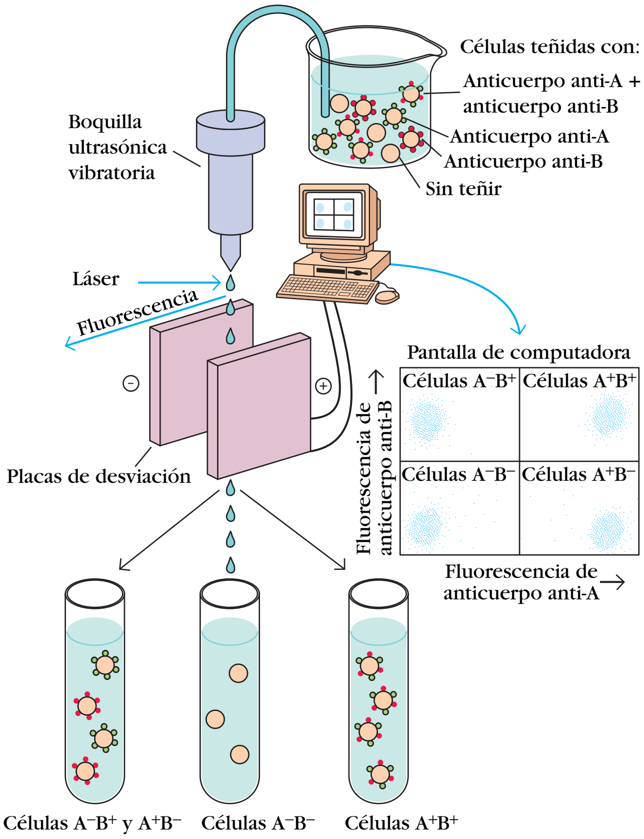


FIGURA 6-15 Separación de células marcadas con fluorocromo en el citómetro de flujo. En el ejemplo que se muestra, una población mixta de células se tiñó con dos anticuerpos: uno específico para el antígeno de superficie A y el otro específico para el antígeno de superficie B. Los anticuerpos anti-A se marcaron con fluoresceína (verde) y los anticuerpos anti-B con rodamina (rojo). Las células teñidas se cargan en la cámara de muestra del citómetro. Las células se expulsan, una a la vez, de una boquilla pequeña vibratoria que genera microgotitas, cada una de las cuales contiene no más de una célula aislada. Conforme sale de la boquilla, cada gotita recibe una carga eléctrica pequeña y la computadora que controla el citómetro de flujo puede detectar con exactitud cuando pasa una gotita generada por la boquilla a través del haz de luz láser que excita el fluorocromo. La intensidad de la fluorescencia emitida por cada gotita que contiene una célula se vigila con un detector y se muestra en una pantalla de computadora. Como la computadora sigue la posición de cada gotita, es posible determinar cuándo una gotita particular llegará entre las placas de desviación. La aplicación de una carga momentánea a las placas de desviación cuando una gotita pasa entre ellas hace posible desviar el trayecto de una gotita particular hacia uno u otro vaso de reunión. Ello permite seleccionar una población de células en subpoblaciones que tienen diferentes perfiles de marcadores de superficie.

Cada punto representa una célula en la pantalla de la computadora. Las células que caen en el panel inferior izquierdo tienen niveles de fondo de fluorescencia y se juzga que no reaccionaron con anticuerpo anti-A o anti-B. Las que aparecen en el panel superior izquierdo reaccionaron con anti-B, pero no con anti-A, y las del panel inferior derecho reaccionaron con anti-A pero no con anti-B. El panel superior derecho contiene células que reaccionan tanto con anti-A como con anti-B. En los ejemplos que aquí se muestran, las subpoblaciones A^-B^- —y A^+B^+— se seleccionaron cada una hacia tubos separados. La tinción con anticuerpos fluorescentes anti-A y anti-B permite distinguir cuatro subpoblaciones: A^-B^-, A^+B^+, A^-B^+ y A^+B^-.

anticuerpo fluorescente específico para un antígeno que se encuentra en todas las células T, sería posible determinar el porcentaje de células T en la población total de glóbulos blancos. A continuación, empleando las capacidades de clasificación celular del citómetro de flujo, podría aislarse la fracción de células T de la población de leucocitos.

- *La distribución de células en la población de una muestra conforme a las densidades de antígeno determinadas por la intensidad de fluorescencia.* Por tanto es posible obtener una medida de la distribución de la densidad de antígeno dentro de la población de células que poseen el antígeno. Ésta es una característica potente del instrumento porque el mismo tipo de células puede expresar diferentes niveles de antígeno según su desarrollo o estado fisiológico.
- *El tamaño de las células.* Esta información se deriva del análisis de las propiedades de dispersión de la luz de miembros de la población celular que se examina.

La citometría de flujo también permite analizar poblaciones celulares que se marcaron con dos o incluso tres diferentes anticuerpos fluorescentes. Por ejemplo, si una muestra de sangre reacciona con un anticuerpo específico para células T marcado con fluoresceína y también con un anticuerpo marcado con ficoeritrina específico para células B, es posible determinar de manera simultánea el porcentaje de células B y T en un solo análisis. Son comunes numerosas variantes de estos análisis "multicolores", incluidos experimentos en que se utilizan muchos "colores" a la vez.

La citometría de flujo ocupa ahora una posición fundamental en la inmunología y la biología celular, y también constituye un recurso clínico indispensable. El citómetro de flujo es uno de los instrumentos esenciales para la detección y clasificación de leucemias en muchos centros médicos (véase el enfoque clínico). La elección del tratamiento de la leucemia depende en mucho de los tipos de células afectados, lo que determina que la identificación precisa de las células neoplásicas sea una parte esencial de la práctica clínica. Asimismo la medición rápida de subpoblaciones de células T, un indicador pronóstico importante en el SIDA, suele llevarse a cabo mediante el análisis citométrico de flujo. En este procedimiento se utilizan anticuerpos monoclonales marcados contra los subtipos principales de célula T que llevan los antígenos CD4 y CD8 para determinar sus proporciones en la sangre del paciente. Éste tiene un riesgo alto de infecciones oportunistas cuando la cifra de células T CD4 disminuye por debajo de determinado nivel.

Alternativas a las reacciones antígeno-anticuerpo

Como defensa contra los anticuerpos del hospedador, algunas bacterias desarrollaron la capacidad de elaborar proteínas que se unen a la región Fc de las moléculas de IgG con afinidad alta ($K_a \sim 10^8$). Una de estas moléculas, que se conoce como **proteína A**, se encuentra en las paredes celulares de algunas cepas de *Staphylococcus aureus*, y otra, la **proteína G**, se presenta en las paredes de estreptococos de los grupos C y G. La clonación de los genes para las proteínas A y G, y la generación de un híbrido

ENFOQUE CLÍNICO

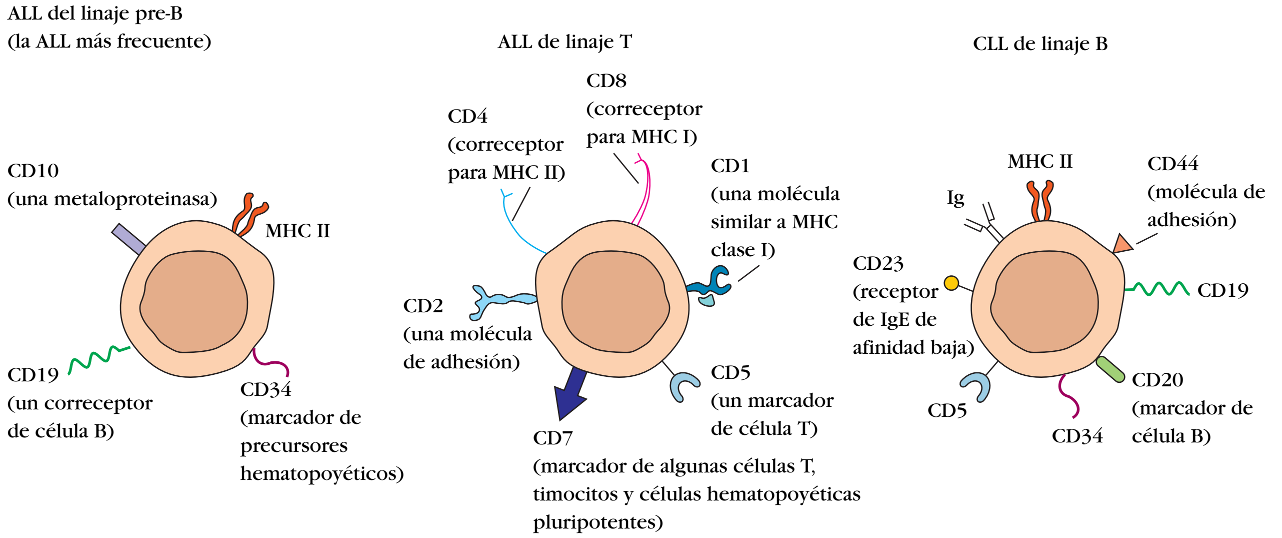
Citometría de flujo y tipificación de leucemias

La leucemia es la proliferación incontrolable de una clona anormal de células hematopoyéticas. De manera característica, las células leucémicas responden mal o en forma inapropiada a señales reguladoras, muestran patrones de diferenciación aberrantes o incluso no se diferencian. Más aún, en ocasiones suprimen el desarrollo de células linfoides y mieloides normales. La leucemia puede surgir en cualquier etapa de maduración de cualesquiera de los linajes hematopoyéticos. Las leucemias linfocíticas muestran muchas características de células del linaje linfoide; otro grupo amplio, las leucemias mielógenas, tienen atributos de miembros del linaje mieloide. Aparte del linaje, muchas leucemias pueden clasificarse como agudas o crónicas. Algunos ejemplos son la leucemia linfocítica aguda (ALL), la más frecuente de la niñez; la leucemia mielógena aguda (AML), que se encuentra más a menudo en adultos que en niños, y la leucemia linfocítica crónica (CLL), que rara vez se observa en niños pero es la forma más común de leucemia del adulto en el mundo occidental. Un cuarto tipo, la leucemia mielógena crónica (CML), se presenta con mucho mayor frecuencia en adultos mayores que en niños.

El diagnóstico de leucemia se basa en la detección de células anormales en el torrente sanguíneo y la médula ósea. El diseño del tratamiento más apropiado para el paciente demanda conocer el tipo de leucemia que padece. A este respecto, dos preguntas son importantes: 1) ¿cuál es el linaje de las células anormales? y 2) ¿cuál es la etapa de maduración? Varios métodos, inclusive el examen citológico de la morfología celular y las características de tinción, la inmunofenotipificación y, en algunos casos, un análisis de reordenamientos génicos, son útiles para responder a estas preguntas. Uno de los más potentes de estos métodos es la inmunofenotipificación, la determinación del perfil de marcadores de superficie celular seleccionados que muestra la célula leucémica. Aunque aún no se encuentran antígenos específicos de leucemia, los perfiles de los antígenos de superficie que se expresan con frecuencia permiten establecer el linaje celular y suelen ser útiles para determinar las etapas de maduración presentes en las poblaciones de células leucémicas. Por ejemplo, una célula anormal que muestra inmunoglobulina de superficie se asignaría al linaje de célula B y su etapa de maduración sería la de una célula B madura. Por otra parte, una célula que tiene cadenas pesadas μ citoplásmicas pero carece de inmunoglobulina de superficie sería una célula leucémica de linaje B, pero en etapa de maduración de célula pre-B. La tecnología más eficiente y precisa para inmunofenotipificación utiliza la citometría de flujo y anticuerpos monoclonales. La disponibilidad de anticuerpos monoclonales específicos para cada una de las calificaciones de antígenos que se encuentran en diversos tipos y subtipos de células hematopoyéticas hizo posible identificar los patrones de expresión de antígeno que son típicos de linajes celulares, etapas de maduración y varios tipos distintos de leucemia. Casi todos los centros para cáncer están equipados con citómetros de flujo que son capaces de efectuar e interpretar los análisis de múltiples parámetros necesarios para suministrar perfiles útiles de marcadores de superficie en poblaciones de células tumorales. La determinación citométrica de flujo de inmunofenotipos permite:

- Confirmar el diagnóstico
- Establecer el diagnóstico cuando no es posible tener un juicio claro con base en la morfología o los patrones de tinción citoquímica
- Identificar perfiles de antígeno aberrantes que pueden ayudar a detectar el retorno de la leucemia durante una remisión
- Mejorar la predicción del curso de la enfermedad

Distribución de marcadores seleccionados en algunos tipos de células leucémicas. Se muestran los perfiles de antígeno de superficie típicos que se encuentran en muchas ALL y CLL.


ALL del linaje pre-B
(la ALL más frecuente)
CD10
(una metaloproteinasa)
MHC II
CD19
(un correceptor
de célula B)
CD34
(marcador de
precursores
hematopoyéticos)
ALL de linaje T
CD8
(correceptor
para MHC I)
CD4
(correceptor
para MHC II)
CD1
(una molécula
similar a MHC
clase I)
CD2
(una molécula
de adhesión)
CD5
(un marcador
de célula T)
CD7
(marcador de algunas células T,
timocitos y células hematopoyéticas
pluripotentes)
CLL de linaje B
MHC II
CD44
(molécula de
adhesión)
Ig
CD23
(receptor
de IgE de
afinidad baja)
CD19
CD20
(marcador de
célula B)
CD5
CD34

de ambos, permiten elaborar una proteína recombinante, que se conoce como **proteína A/G**, ya que combina características de ambas. Estas moléculas son útiles porque unen IgG de muchas especies distintas. Por ello pueden marcarse con fluorocromos, radiactividad o biotina y emplearse para detectar moléculas de IgG en los complejos antígeno-anticuerpo que se forman durante las pruebas ELISA, RIA o las que se basan en fluorescencia, como la citometría de flujo o la microscopia de fluorescencia. Estas proteínas bacterianas que unen IgG también pueden utilizarse a fin de formar columnas de afinidad para el aislamiento de la inmunoglobulina G (IgG).

La clara de huevo contiene una proteína llamada *avidina*, la cual se une a la biotina, una vitamina esencial para la síntesis de grasa. Se piensa que la avidina evolucionó como una defensa contra roedores merodeadores de nidos en busca de huevos. La unión entre avidina y biotina es en extremo específica y de una afinidad mucho más alta ($K_a \sim 10^{15}$) que cualquier otra reacción antígeno-anticuerpo conocida. Una proteína bacteriana llamada **estreptavidina**, que *Streptomyces avidinii* elabora, tiene afinidad y especificidad altas similares. Muchos procedimientos inmunitarios aprovechan la extraordinaria afinidad y la minuciosa especificidad de la interacción de estas proteínas con la biotina. El anticuerpo primario o secundario se marca con biotina y se deja reaccionar con el antígeno blanco; luego el anticuerpo no unido se elimina por lavado. A continuación la estreptavidina o la avidina conjugadas con una enzima, fluorocromo o una marca radiactiva se usan para detectar el anticuerpo unido.

Microscopia inmunoelectrónica

La especificidad fina de los anticuerpos los convierte en poderosos instrumentos para observar componentes tisulares intracelulares específicos mediante **microscopia inmunoelectrónica**. En esta técnica, un marcador electrodenso se conjuga con la porción Fc de un anticuerpo específico para tinción directa o con un reactivo antiinmunoglobulina para tinción indirecta. Se utilizan varios marcadores electrodensos, entre otros *ferritina* y *oro coloidal*. El marcador electrodenso puede visualizarse al microscopio electrónico como puntos negros pequeños. En el marcado con inmunooro, diferentes anticuerpos pueden conjugarse con partículas de oro de distintos tamaños, lo que permite identificar varios antígenos dentro de una célula por los tamaños muy diferentes de las partículas de oro electrodensas fijadas a los anticuerpos (fig. 6-16).

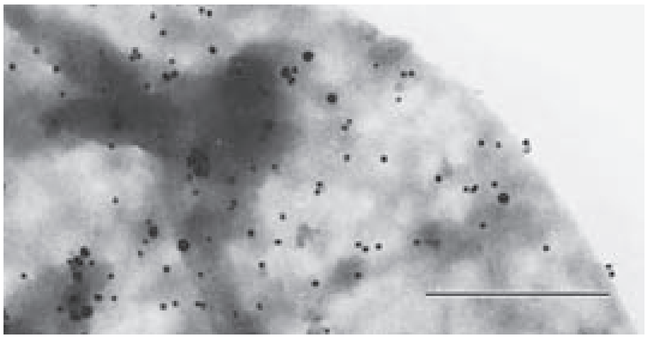


FIGURA 6-16 Inmunoelectromicrografía de la superficie de una célula B de linfoma que se tiñó con dos anticuerpos: uno contra moléculas MCH clase II marcadas con partículas de oro de 30 nm y otra contra moléculas MHC clase I marcadas con partículas de oro de 15 nm. La densidad de moléculas clase I excede la de la clase II en esta célula. Bar = 500 nm. *[De A. Jenei et al., 1997, PNAS **94:**7269-7274; cortesía de A. Jenei y S. Damjanovich, Escuela de Medicina de la Universidad de Debrecen, Hungría.]*

RESUMEN

- Las interacciones antígeno-anticuerpo dependen de cuatro tipos de interacciones no covalentes: enlaces hidrógeno, enlaces iónicos, interacciones hidrófobas e interacciones de van der Waals.
- La constante de afinidad, que puede determinarse mediante el análisis de Scatchard, proporciona una medida cuantitativa de la fuerza de interacción entre un epítopo del antígeno y un sitio de unión individual de un anticuerpo. La avidez refleja la fuerza total de las interacciones entre una molécula de anticuerpo multivalente y una molécula de antígeno multivalente en múltiples sitios.
- La resonancia de plasmones superficiales (SPR) permite la caracterización de la afinidad y la cinética de las interacciones antígeno-anticuerpo.
- La interacción de un antígeno soluble y la precipitación de anticuerpo en un medio líquido o en gel forman un precipitado de antígeno y anticuerpo (Ag-Ab). La electroforesis puede combinarse con precipitación en gel en una técnica denominada inmunoelectroforesis.
- La interacción entre un antígeno particulado y un anticuerpo aglutinante (aglutinina) produce agregación visible o aglutinación, que forma la base de una serie de inmunoensayos simples, rápidos y sensibles.
- El radioinmunoensayo (RIA) es un procedimiento muy sensible y cuantitativo que utiliza antígeno o anticuerpo marcado con radiactividad.
- El ensayo de inmunosorbente ligado a enzima (ELISA) depende de una reacción de enzima y sustrato que genera un producto de reacción de color. Las pruebas ELISA que recurren a la quimioluminiscencia en lugar de una reacción cromógena son los inmunoensayos más sensibles con que se cuenta.
- La técnica de Western blotting separa una mezcla de proteínas mediante electroforesis; a continuación las bandas de proteína se transfieren electroforéticamente a nitrocelulosa y se identifican con anticuerpo o antígeno marcado.
- La microscopia de fluorescencia que emplea anticuerpos marcados con moléculas fluorescentes permite observar antígeno sobre las células o dentro de ellas.
- La citometría de flujo constituye una tecnología extraordinariamente potente para el análisis cuantitativo y la clasificación de poblaciones celulares marcadas con uno o más anticuerpos fluorescentes.

Bibliografía

Bierer, B., et al. 2005. *Current Protocols in Immunology*. Wiley, New York.

Harlow, E., and D. Lane. 1999. *Using antibodies: A Laboratory Manual*. Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, NY.

Herzenberg, L. A., ed. 1996. *Weir's Handbook of Experimental Immunology*, 5th ed. Oxford, Blackwell Scientific Publications.

Malmqvist, M. 1993. Surface plasmon resonance for detection and measurement of antibody-antigen affinity and kinetics. *Current Opinion in Immunology* **5:**282.

Rich, R. L., and D. G. Myszka. 2003. Spying on HIV with SPR. *Trends in Microbiology* **11:**124.

Rose, N. R., et al. 1997. *Manual of Clinical Laboratory Immunology.* American Society of Microbiology, Washington, DC.

Wild, D., ed. 2005. *The Immunoassay Handbook*, 3rd ed. Elsevier, Amsterdam.

Sitios útiles en la red

http://pathlabsofark.com/flowcyttests.html

Explore los Pathology Laboratories of Arkansas para ver qué tipos de muestras se obtienen de los pacientes y qué marcadores se utilizan para valorar poblaciones de linfocitos mediante citometría de flujo.

http://jcsmr.anu.edu.au/facslab/protocol.html

En el sitio Australian Flow Cytometry Group Web, muy informativo, puede encontrarse una guía detallada y cuidadosamente ilustrada para la interpretación de análisis citométricos de flujo de muestras clínicas.

http://www.rockefeller.edu/spectroscopy/instruments_spr.php

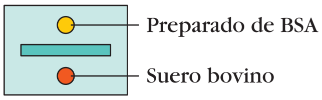
Excelente definición de las unidades de la respuesta expresada en la resonancia de plasmones superficiales.

Preguntas de estudio

PREGUNTA DE ENFOQUE CLÍNICO El análisis de citometría de flujo para la detección y medición de subpoblaciones de leucocitos, inclusive los de la leucemia, suele realizarse mediante el uso de anticuerpos monoclonales. ¿Por qué es esto necesario?

1. Indique si cada una de las afirmaciones siguientes es verdadera o falsa. Si piensa que una afirmación es falsa, explique por qué.
    a. La inmunofluorescencia indirecta es una técnica más sensible que la inmunofluorescencia directa.
    b. Casi todos los antígenos inducen una respuesta policlonal.
    c. Los anticuerpos anti-SRBC digeridos con papaína pueden aglutinar glóbulos rojos de oveja (SRBC, *sheep red blood cells*).
    d. Los anticuerpos anti-SRBC digeridos con pepsina pueden aglutinar SRBC.
    e. La inmunofluorescencia indirecta puede efectuarse usando un fragmento Fab como el anticuerpo primario no marcado.
    f. A fin de que la precipitación ocurra, tanto el antígeno como el anticuerpo deben ser multivalentes.
    g. El análisis de una población celular mediante citometría de flujo puede brindar al mismo tiempo información tanto de la distribución por tamaño como del perfil de antígeno de poblaciones celulares que contienen varios tipos diferentes de células.
    h. Las pruebas ELISA que recurren a la quimioluminiscencia son más sensibles que las cromógenas y las pruebas de precipitación lo son más que las de aglutinación.
    i. La Western blotting y las pruebas de inmunoprecipitación son valoraciones cuantitativas útiles para medir las concentraciones de proteínas en células o tejidos.
    j. Suponga que tanto el anticuerpo A como el B reaccionan con un epítopo C. Más aún, suponga que el anticuerpo A tiene una K_a cinco veces mayor que la de B. La fuerza de la reacción monovalente del anticuerpo A con el epítopo C siempre será mayor que la avidez del anticuerpo B por un antígeno con múltiples copias del epítopo C.

2. Usted obtiene un preparado de albúmina sérica de bovino (BSA) purificada de suero normal de bovino. Para determinar si en el preparado de BSA quedan algunas otras proteínas séricas decide utilizar inmunoelectroforesis.
    a. ¿Qué antígeno emplearía a fin de obtener el antisuero necesario para detectar impurezas en la preparación de BSA?
    b. Suponiendo que el preparado de BSA es puro, dibuje el patrón inmunoelectroforético que cabría esperar si la valoración se llevara a cabo con suero de bovino en un foso arriba de un cuenco que contiene el antisuero obtenido en a) y la muestra de BSA en un foso abajo del cuenco, como se muestra a continuación:



3. Las etiquetas de cuatro frascos (A, B, C, y D) de conjugados de hapteno y portador se perdieron accidentalmente. Sin embargo, se sabía que cada frasco contenía 1) hapteno 1-portador 1 (H1-C1), 2) hapteno 1-portador 2 (H1-C2), 3) hapteno 2-portador 1 (H2-C1) o 4) hapteno 2-portador 2 (H2-C2). El portador 1 tiene peso molecular de 60 000 Da y el portador 2 uno mayor de 120 000 Da. Suponga que tiene un anticuerpo anti-H1 y un anticuerpo anti-H2, y un marcador con peso molecular de 100 000 Da. Utilice Western blotting para determinar el contenido de cada frasco y muestre los Western blots que cabría esperar de 1, 2, 3 y 4. Su respuesta también debe indicar qué anticuerpo o combinación de anticuerpos se usó para obtener cada *blot* (mancha).

4. Indique con cuál de las pruebas siguientes es posible determinar la concentración de una cantidad pequeña (250 ng/ml) de hapteno: a) ELISA (cromógena), b) método de Ouchterlony, c) RIA, d) microscopia de fluorescencia, e) citometría de flujo, f) inmunoprecipitación, g) microscopia inmunoelectrónica, h) ELISPOT, i) ELISA quimioluminiscente.

5. El lector tiene una proteína de mieloma, X, cuyo isotipo se desconoce, y varias otras proteínas de mieloma de todos los isotipos conocidos (p. ej., IgG, IgM, IgA e IgE.)

a. ¿Cómo produciría anticuerpos específicos de isotipo que pudieran utilizarse para determinar el isotipo de proteína de mieloma, X?
b. ¿Cómo podría emplear este anticuerpo antiisotipo para medir la concentración de proteína de mieloma X en suero normal?

6. Para cada antígeno o anticuerpo que se menciona en seguida, indique un método de valoración apropiado y los reactivos necesarios para la prueba. Tenga presente la sensibilidad de la prueba y la concentración esperada de cada proteína.

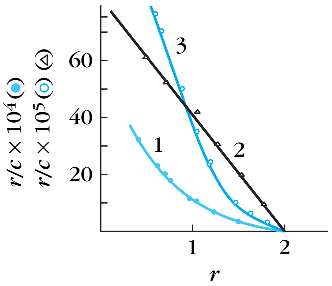
a. IgG en suero
b. Insulina en suero
c. IgE en suero
d. Componente C3 del complemento en membrana basal glomerular
e. Anticuerpos anti-A contra antígeno de grupo sanguíneo A en suero
f. Contaminación de una hamburguesa con carne de caballo
g. Espiroqueta de sífilis en frotis de un chancro

7. ¿Cuáles de los siguientes *no* participan en la formación de complejos antígeno-anticuerpo?

a. Enlaces hidrófobos
b. Enlaces covalentes
c. Interacciones electrostáticas
d. Enlaces de hidrógeno
e. Fuerzas de van der Waals

8. Explique la diferencia entre afinidad de anticuerpo y avidez de anticuerpo. ¿Cuál de estas propiedades de un anticuerpo indica mejor su capacidad de contribuir a la inmunorreacción humoral contra bacterias invasoras?

9. El lector desea desarrollar un inmunoensayo sensible para una hormona que se presenta en la sangre a concentraciones de casi 10^{-7} *M*. Se le ofrece una elección de tres antisueros diferentes cuyas afinidades por la hormona se determinaron mediante diálisis de equilibrio. Los resultados se muestran en las gráficas de Scatchard.



a. ¿Cuál es el valor de K_0 para cada antisuero?
b. ¿Cuál es la valencia de cada anticuerpo?
c. ¿Cuál de los antisueros podría ser un anticuerpo monoclonal?
d. ¿Cuál de los antisueros usaría para su valoración? ¿Por qué?

10. Al preparar una demostración para su clase de inmunología, una instructora purificó anticuerpos de IgG contra glóbulos rojos de oveja (SRBC) y llevó a cabo la digestión de algunos de los anticuerpos en fragmentos Fab, Fc y $F(ab)_2$. Colocó cada preparado en un tubo distinto, marcó los tubos con un marcador hidrosoluble y los dejó en una cubeta con hielo. Cuando la instructora volvió para su clase descubrió que las etiquetas se habían manchado y no eran legibles. Determinada a salvar la demostración, marcó de nuevo los tubos 1, 2, 3 y 4, y prosiguió. Con base en los resultados de la prueba que se describen a continuación, indique qué preparado contenía cada tubo y explique cómo se identificó el contenido.

a. El preparado del tubo 1 aglutinó SRBC, pero no los lisó en presencia de complemento.
b. El preparado del tubo 2 no aglutinó SRBC, ni los lisó en presencia de complemento. Sin embargo, cuando este preparado se añadió a SRBC antes de la adición de anti-SRBC completo, previno la aglutinación de las células por el antisuero anti-SRBC completo.
c. El preparado del tubo 3 aglutinó SRBC y también lisó las células en presencia de complemento.
d. El preparado del tubo 4 no aglutinó ni lisó SRBC y no inhibió la aglutinación de SRBC por antisuero anti-SRBC completo.

11. Considere la ecuación 1 y deduzca la forma de la ecuación de Scatchard que aparece en la ecuación 2.

1. $S + L = SL$
2. $B/F = K_a ([S]_t - B)$

donde S = sitios de unión de anticuerpo; [S] = concentración molar de sitios de unión de anticuerpo; L = ligando (antígeno monovalente); [L] = concentración molar de ligando; SL = complejo de sitio y ligando; [SL] = concentración molar del complejo de sitio y ligando; B sustituye a [SL] y F a [L]. Sugerencia: sería útil comenzar escribiendo la ley de acción de masa para la reacción que se muestra en la ecuación 1.

12. El lector toma un trabajo de verano en un laboratorio clínico para ayudarse a pagar sus estudios. Ordena un estuche para detectar anticuerpos contra hantavirus en suero por medio de ELISA indirecto, pero cuando llega usted advierte que no tiene instrucciones, sólo botellas rotuladas “reactivo A”, “reactivo B”, etc. Es posible que varios pacientes se hayan expuesto a hantavirus, y usted necesita usar el estuche para demostrarlo.

Para uso con la pregunta 12

Nulo	– Testigo	+ Testigo		1:1	1:10	1:100	1:1 000	1:10 000	1:100 000
0.001	0.103	0.857	P1	1.002	0.562	0.352	0.202	0.096	0.005
0.006	0.056	0.952	P2	0.002	0.005	0.008	0.002	0.004	0.001
0.005	0.096	0.903	P3	0.568	0.203	0.086	0.079	0.082	0.045

a. ¿Cuáles de las siguientes sustancias quizá se incluyan en el estuche como reactivos necesarios para realizar el ensayo?
   1. Antígeno soluble testigo positivo
   2. Anticuerpo primario contra hantavirus
   3. Sustrato
   4. Anticuerpo secundario marcado por enzima contra el primario
   5. Anticuerpo secundario marcado por enzima contra el virus
   6. Placas recubiertas de antígeno

b. Usando el estuche, usted obtiene resultados para el suero de tres pacientes (P1-P3 en el cuadro de la página anterior). ¿Cuáles son los títulos de los sueros de los pacientes? (Dé un título para cada uno de los tres pacientes.) ¿Cuál o cuáles de estos pacientes se expusieron, en su caso?

13. El investigador para el que usted trabaja acaba de descubrir un nuevo receptor que se piensa es importante en el desarrollo de la enfermedad de Alzheimer. Otros miembros del personal del laboratorio han clonado el receptor y han transfectado el gen en una línea celular para estudio ulterior. La tarea de usted es clasificar las células transfectadas para eliminar las que no expresan el gen, y seleccionar una población de las que lo expresan en alto grado. Usted dispone de un anticuerpo de conejo contra el receptor, un anticuerpo murino testigo que se une a las células transfectadas, anticuerpos antimurinos de cabra conjugados con fluoresceína, y anticuerpos anticonejo de burro conjugados con rodamina.

   a. Describa cómo diseñaría el experimento de FACS.
   b. Trace un histograma FACS representativo para los resultados esperados, donde el eje *x* muestre la concentración de fluoresceína y el eje *y* la concentración de rodamina. Incluya en su histograma el sitio donde colocaría las compuertas para la separación de las células.

14. ¿Cuál es la ventaja de usar un ELISPOT contra un ELISA en sándwich estándar? ¿Cuáles son las semejanzas y diferencias entre estos dos ensayos?

ANALICE LOS DATOS Kanayama y colaboradores (*J. Immunology* **169:**6865, 2002) crearon un ratón transgénico (ratón QM) cuyo principal receptor de célula B (presente en 80% de todas las células B del ratón) estaba constituido por cadenas pesadas codificadas por V_H 17.2.25 y cadenas ligeras λ1 o λ2. El receptor de antígeno era específico para el hapteno 4-hidroxi-3-nitrofenilacetilo (NP). Los investigadores estimaron la afinidad relativa de esas células B hacia otros haptenos relacionados con NP usando los ensayos de inhibición competitiva (IC_{50} = concentración necesaria para competir por 50% de la unión a NP radiomarcado) que se indican en el cuadro adjunto. También inmunizaron las almohadillas digitales de los ratones QM con pNP-CGG (globulina de pollo) y luego obtuvieron sangre de los ratones a diversos intervalos (véanse las gráficas más adelante). Conteste las siguientes preguntas basándose en la información presentada y en lo que ha aprendido en este libro.

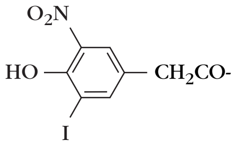
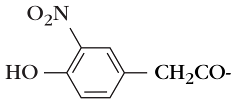
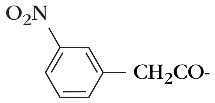
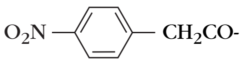
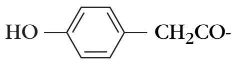
a. Verdadero o falso: este idiotipo (receptor de antígeno) es específico para el hapteno NP; por tanto, el receptor de Ig siempre tendrá la máxima afinidad por NP comparado con otros haptenos afines a NP. Explique.

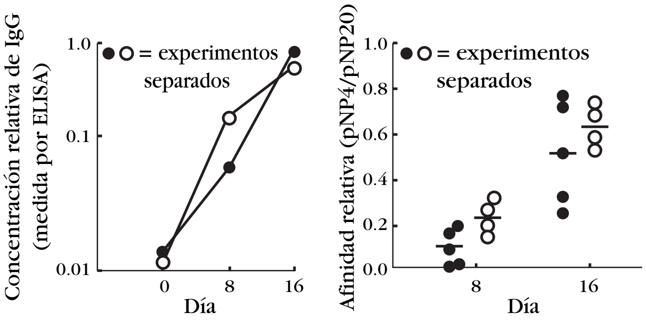
b. ¿Ocurrió cambio de clase en respuesta a la inmunización? Explique su respuesta.

c. ¿Cuáles dos procesos contribuyeron al resultado que se ilustra en la gráfica b?

d. Las células B de los ratones QM analizadas en este estudio expresaron cadenas ligeras λ. ¿Qué puede decir acerca de los sucesos ocurridos en la etapa de célula pre-B de la diferenciación de linfocitos B que condujeron a la producción de anticuerpo con cadenas ligeras λ?

e. ¿Tienen las células B que expresan la cadena pesada codificada por V_H 17.2.25 y la cadena ligera λ1 el mismo idiotipo que las células B que expresan IgG con cadena pesada codificada por V_H 17.2.25 y la cadena ligera λ2?

Ligando DNP		IC_{50} (M)
NIP		2×10^{-5} (15)
NP		3×10^{-4} (1)
mNP		3×10^{-4} (1)
pNP		6×10^{-3} (0.05)
HP		Sin inhibición

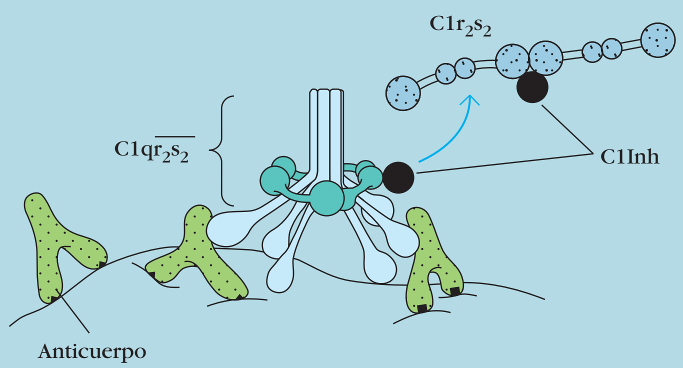


a) Respuesta anti-IgG contra pNP con el tiempo

b) Afinidad relativa de la respuesta de anticuerpo anti-pNP con el tiempo

capítulo 7

Sistema del complemento



Inicio de la vía clásica del complemento por unión de anticuerpo a una membrana celular y su inhibición por inhibidor C1.

- Funciones del complemento
- Componentes del complemento
- Activación del complemento
- Regulación del sistema del complemento
- Consecuencias biológicas de la activación del complemento
- Deficiencias de complemento

El sistema del complemento es el principal efector de la rama humoral del sistema inmunitario. La investigación del complemento se inició en la década de 1890, cuando Jules Bordet, del Instituto Pasteur en París, demostró que el antisuero de oveja contra la bacteria *Vibrio cholerae* lisaba la bacteria y el calentamiento del antisuero destruía su actividad bacteriolítica. Como hecho sorprendente, la capacidad del suero calentado de lisar bacterias se restableció con la adición de suero intacto que no contenía anticuerpos dirigidos contra la bacteria y que era incapaz de destruir la bacteria por sí mismo. Bordet razonó de forma correcta que la actividad bacteriolítica requiere dos sustancias diferentes: primero, anticuerpos antibacterianos específicos que sobreviven al proceso de calentamiento, y un segundo componente sensible al calor que causa la actividad lítica. Bordet diseñó una prueba simple para la actividad lítica: la lisis (que se detecta con facilidad) de glóbulos rojos recubiertos con anticuerpo, la denominada **hemólisis**. Paul Ehrlich, en Berlín, llevó a cabo de manera independiente experimentos similares e ideó el término *complemento* y lo definió como “la actividad del suero sanguíneo que completa la acción del anticuerpo”. En los años siguientes, los investigadores descubrieron que la acción del complemento resultaba de interacciones de un grupo grande y complejo de proteínas. Se demostró además que los resultados de la activación del complemento van más allá de la lisis celular mediada por anticuerpo, y que el complemento tiene un papel clave tanto en la inmunidad innata como en la adaptativa.

Un aspecto importante de la actividad del complemento es su posición en el sistema inmunitario innato. Aunque el descubrimiento del complemento y la mayoría de los estudios tempranos se vincularon con la actividad del complemento después de la unión de anticuerpo, una función importante de este sistema es el reconocimiento y la destrucción de patógenos con base en el reconocimiento de patrones moleculares relacionados con patógeno, o PAMP, más que en la especificidad de anticuerpo. La activación de la cascada del complemento puede ser iniciada por varias proteínas que circulan en el suero normal. Estas moléculas, denominadas **proteínas de fase aguda**, poseen capacidad de reconocimiento de patrones y experimentan cambios de concentración durante la inflamación. De este modo, todas las diversas acciones del sistema del complemento pueden ser desencadenadas no sólo por anticuerpos, como lo demostró originalmente Bordet, sino también por componentes de la inmunidad innata.

En este capítulo se describen los componentes del sistema del complemento, su activación por tres vías principales, la regulación del sistema, las funciones efectoras de diversos componentes del complemento y las consecuencias clínicas de sus deficiencias. En el enfoque clínico se describen las consecuencias de un defecto de las proteínas que regulan la actividad del complemento.

Funciones del complemento

La investigación sobre el complemento incluye en la actualidad más de 30 proteínas solubles y unidas a células. Las actividades biológicas de este sistema afectan las inmunidades innata y adaptativa y van mucho más allá de las observaciones originales de la lisis de bacterias y glóbulos rojos mediada por anticuerpo. Las comparaciones estructurales de las proteínas que participan en las vías del complemento sitúan el origen de este sistema en microorganismos primitivos que poseen los

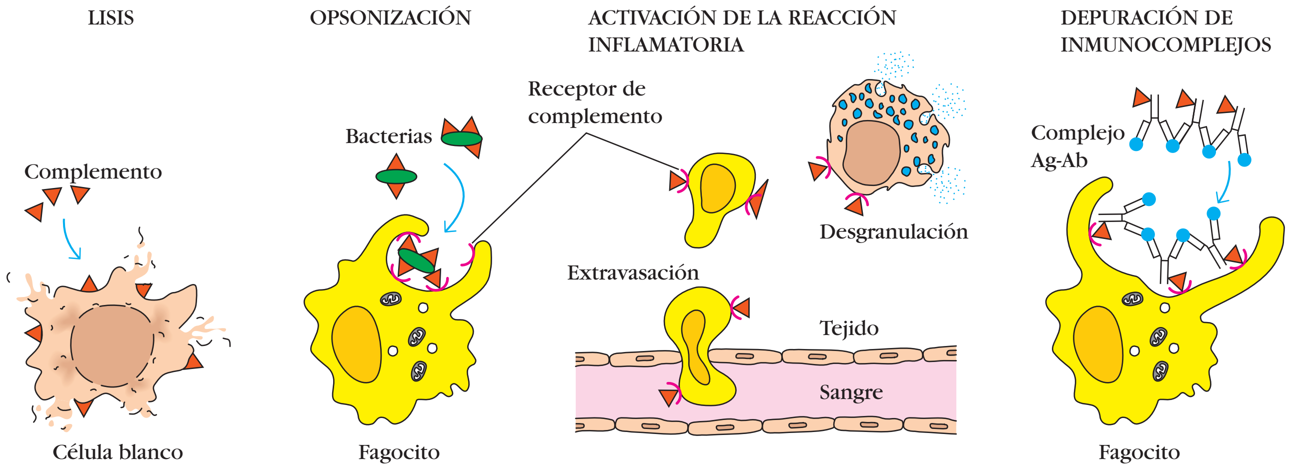


FIGURA 7-1 Las diversas actividades del sistema del complemento. Proteínas séricas y receptores de complemento unidos a membrana participan en varias actividades inmunitarias: lisis de células extrañas por vías dependiente o independiente de anticuerpo; opsonización o captación de antígenos particulados, incluidas las bacterias, por fagocitos; activación de reacciones inflamatorias y depuración de inmunocomplejos circulantes por células en hígado y bazo. Las proteínas del complemento solubles están indicadas de forma esquemática por un triángulo y los receptores por un semicírculo; en este esquema no se intenta diferenciar entre componentes individuales del sistema del complemento.

sistemas inmunitarios innatos más rudimentarios. Los organismos multicelulares primitivos que carecen de componentes de inmunidad adaptativa poseen proteínas relacionadas con el sistema del complemento. En contraste, la interacción de receptores celulares con proteínas del complemento controla algunas actividades de las células B, lo cual revela que este sistema participa en el sistema inmunitario adaptativo, altamente desarrollado. Así, en las especies de vertebrados, existe un sistema que abarca la inmunidad innata y la adaptativa, que contribuye a cada una de modos diversos.

Después de la activación inicial, los diferentes componentes del complemento interactúan en una cascada muy regulada para llevar a cabo varias funciones básicas (fig. 7-1), entre ellas las siguientes:

- Lisis de células, bacterias y virus
- Opsonización, que promueve la fagocitosis de antígenos particulados
- Unión a receptores de complemento específicos en células del sistema inmunitario, lo que desencadena funciones características de dichas células, inflamación y secreción de moléculas inmunorreguladoras
- Depuración inmunitaria (inmunodepuración), que elimina complejos inmunitarios de la circulación y los deposita en el bazo y el hígado

Componentes del complemento

Las proteínas y glucoproteínas solubles que componen el sistema del complemento se sintetizan sobre todo en los hepatocitos, aunque también producen cantidades de importancia monocitos sanguíneos, macrófagos tisulares y células epiteliales de los aparatos digestivo y genitourinario. Estos componentes constituyen 5% (en peso) de la fracción de la globulina sérica. Casi todos circulan en el suero en formas funcionales inactivas como proenzimas, o *cimógenos*, hasta que ocurre la escisión proteolítica que elimina un fragmento inhibidor y expone el sitio activo de la molécula. La secuencia de reacción del complemento se inicia con una cascada enzimática.

Los componentes del complemento se designan con numerales (C1-C9), letras (p. ej., factor D) o nombres comunes (como factor de restricción homólogo). Los fragmentos peptídicos que se forman por activación de un componente se indican con letras pequeñas. En la mayor parte de los casos, los fragmentos más pequeños que resultan de la escisión de un componente se designan "a", y el fragmento más grande se designa "b" (p. ej., C3a, C3b; cabe señalar que C2 es una excepción: C2a es el fragmento de escisión más grande). Los fragmentos más grandes se unen al blanco cerca del sitio de activación, y los más pequeños se difunden desde el sitio y pueden precipitar reacciones inflamatorias localizadas por unión a receptores específicos. Los fragmentos del complemento interactúan entre sí para formar complejos funcionales. Los complejos que tienen actividad enzimática se designan con una línea sobre el número o signo (p. ej., $C\overline{4b2a}$, $C\overline{3bBb}$).

Activación del complemento

En la figura 7-2 se delinean las vías de activación del complemento. Las etapas tempranas, que culminan con la formación de C5b, pueden ocurrir por las **vías clásica (o común)**, **alterna** o **de lectina**. Los pasos finales que llevan a la formación del complejo de ataque a membrana (MAC, del inglés *membrane-attack complex*) son idénticos en todas las vías.

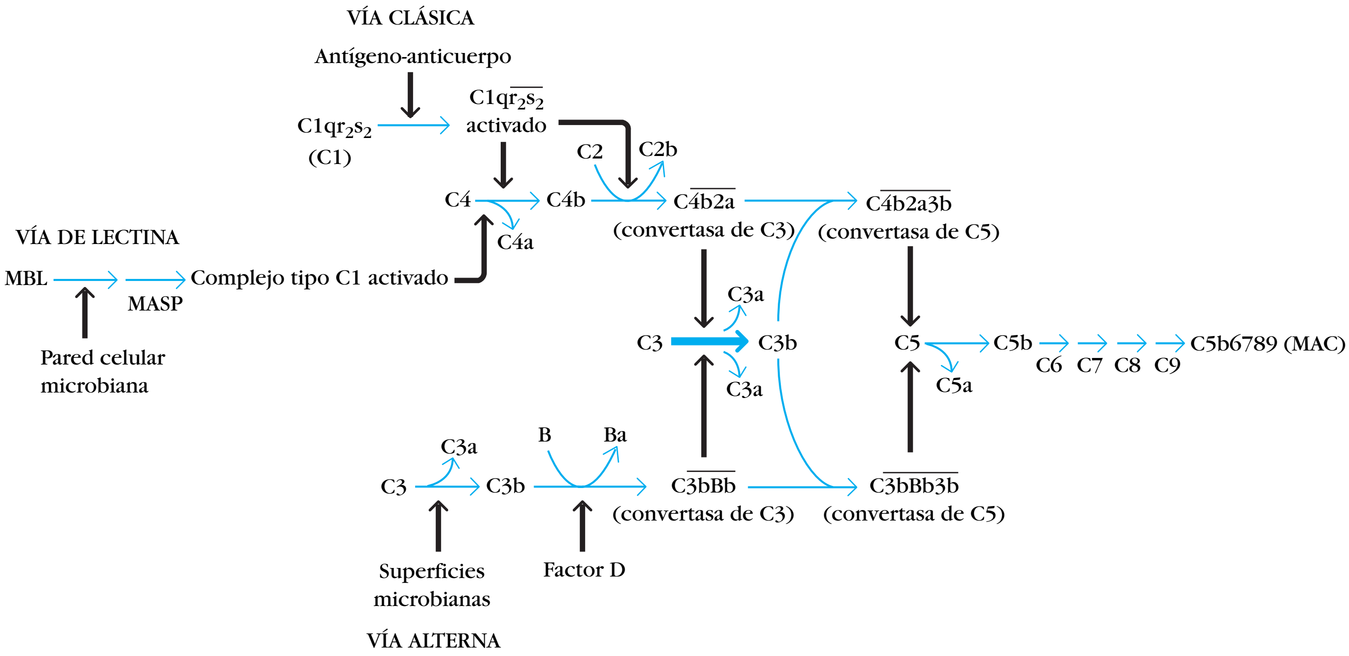


FIGURA 7-2 Generalidades de las vías de activación del complemento. La vía clásica se inicia cuando se une C1 a complejos de antígeno y anticuerpo. La vía alterna comienza por la unión de C3b generado de modo espontáneo a superficies de activación, como paredes de células microbianas. La vía de lectina empieza con la unión de la proteína sérica MBL a la superficie de un patógeno. Las tres vías liberan convertasas de C3 y C5 y unen C5b, que se convierte en un complejo de ataque a membrana (MAC) por una secuencia común de reacciones terminales.

La vía clásica se inicia con la unión de antígeno y anticuerpo

La activación del complemento por la vía clásica comienza casi siempre con la formación de complejos de antígeno y anticuerpo solubles (complejos inmunitarios o inmunocomplejos) o con la unión de anticuerpo a antígeno en un blanco conveniente, por ejemplo una célula bacteriana. La IgM y ciertas subclases de IgG (IgG1, IgG2 e IgG3 humanas, pero no IgG4) pueden activar la vía clásica del complemento. La etapa inicial de la activación incluye C1, C2, C3 y C4, que se encuentran en el plasma en formas funcionales inactivas. Debido a que los componentes se nombraron en el orden de su descubrimiento y antes que se determinaran sus sitios funcionales, los números en sus nombres no siempre indican el orden en que reaccionan.

La formación de un complejo de antígeno y anticuerpo induce cambios de conformación en la porción Fc de la molécula de IgM, los cuales exponen un sitio de unión para el componente C1 del sistema del complemento. El C1 en suero es un complejo macromolecular que consiste en C1q y dos moléculas C1r y dos C1s, unidas entre sí en un complejo ($C1qr_2s_2$) estabilizado por iones Ca^{2+}. La molécula C1q se compone de 18 cadenas polipeptídicas que se unen para formar seis brazos helicoidales triples parecidos a colágena, cuyas puntas se unen a sitios de unión de C1q expuestos en el dominio C_H2 de la molécula de anticuerpo (fig. 7-3). Cada monómero C1r y C1s contiene un dominio catalítico y un dominio de interacción; el último facilita la interacción con C1q o de uno con el otro.

Cada complejo macromolecular C1 debe unirse mediante sus cabezas globulares C1q cuando menos a dos sitios Fc para que suceda una interacción estable C1-anticuerpo. Cuando IgM pentamérica se une a antígeno en una superficie blanco, asume la llamada configuración en "grapa", en la cual se exponen cuando menos tres sitios de unión para C1q. Sin embargo, la IgM circulante existe en una configuración plana en la cual no están expuestos los sitios de unión de C1q (fig. 7-4) y por consiguiente no puede activar la cascada del complemento. Por otra parte, una molécula de IgG sólo contiene un sitio de unión de C1q en el dominio C_H2 del Fc, de manera que la unión firme de C1q sólo se logra cuando dos moléculas de IgG se encuentran a 30 a 40 nm una de la otra en una superficie blanco o en un complejo, lo que proporciona dos sitios de inserción para C1q. Esta diferencia explica la observación de que una molécula individual de IgM unida a un glóbulo rojo puede activar la vía del complemento clásica y lisar el eritrocito, en tanto que se requieren alrededor de 1 000 moléculas de IgG para asegurar que dos de ellas se encuentren lo bastante cerca una de la otra en la superficie celular para iniciar la unión de C1q.

En la figura 7-5 se muestran de modo esquemático los intermediarios en la vía de activación clásica. La unión de C1q a sitios de unión Fc induce un cambio de conformación en C1r que convierte ésta en una enzima proteasa de serina activa, $C\overline{1r}$, que a continuación escinde C1s en una enzima activa similar, $C\overline{1s}$, la cual tiene dos sustratos, C4 y C2. El componente C4 es una glucoproteína que contiene tres cadenas polipeptídicas α, β y γ. El C4 se activa cuando $C\overline{1s}$ hidroliza un fragmento

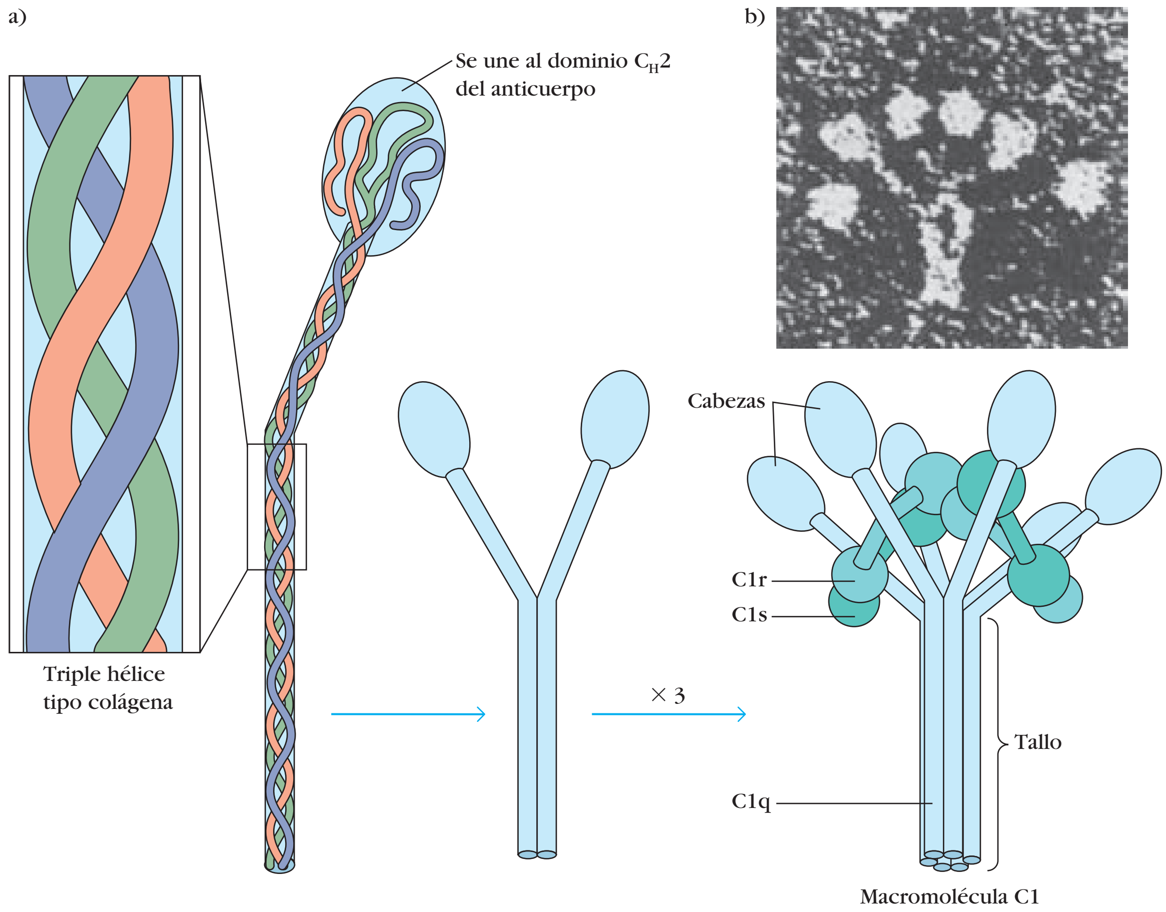

a)
b)
Se une al dominio C_H2 del anticuerpo
Triple hélice tipo colágena
× 3
Cabezas
C1r
C1s
Tallo
C1q
Macromolécula C1

FIGURA 7-3 Estructura del complejo macromolecular C1. a) Una molécula C1q consta de 18 cadenas polipeptídicas dispuestas en seis hélices triples tipo colágena, cada una de las cuales contiene una cadena A, una B y una C, que se muestran en azul, verde y rojo, respectivamente. El grupo de la cabeza de cada triplete contiene elementos de las tres cadenas. En la macromolécula C1, C1q interactúa con dos moléculas de C1r y dos de C1s. Cada monómero C1r y C1s contiene un dominio catalítico con actividad enzimática y un dominio de interacción que facilita la unión con C1q o entre sí. b) Micrografía electrónica de la molécula C1q que muestra el tallo y seis cabezas globulares. *[Fotografía del recuadro de H. R. Knobel et al., 1975,* European Journal of Immunology ***5:****78.]*

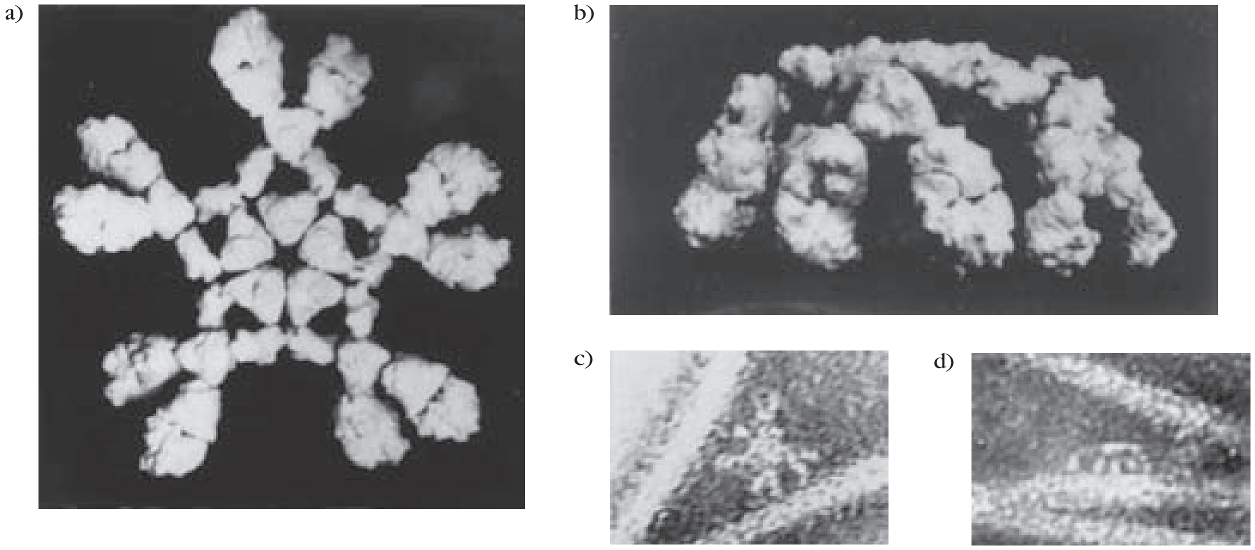
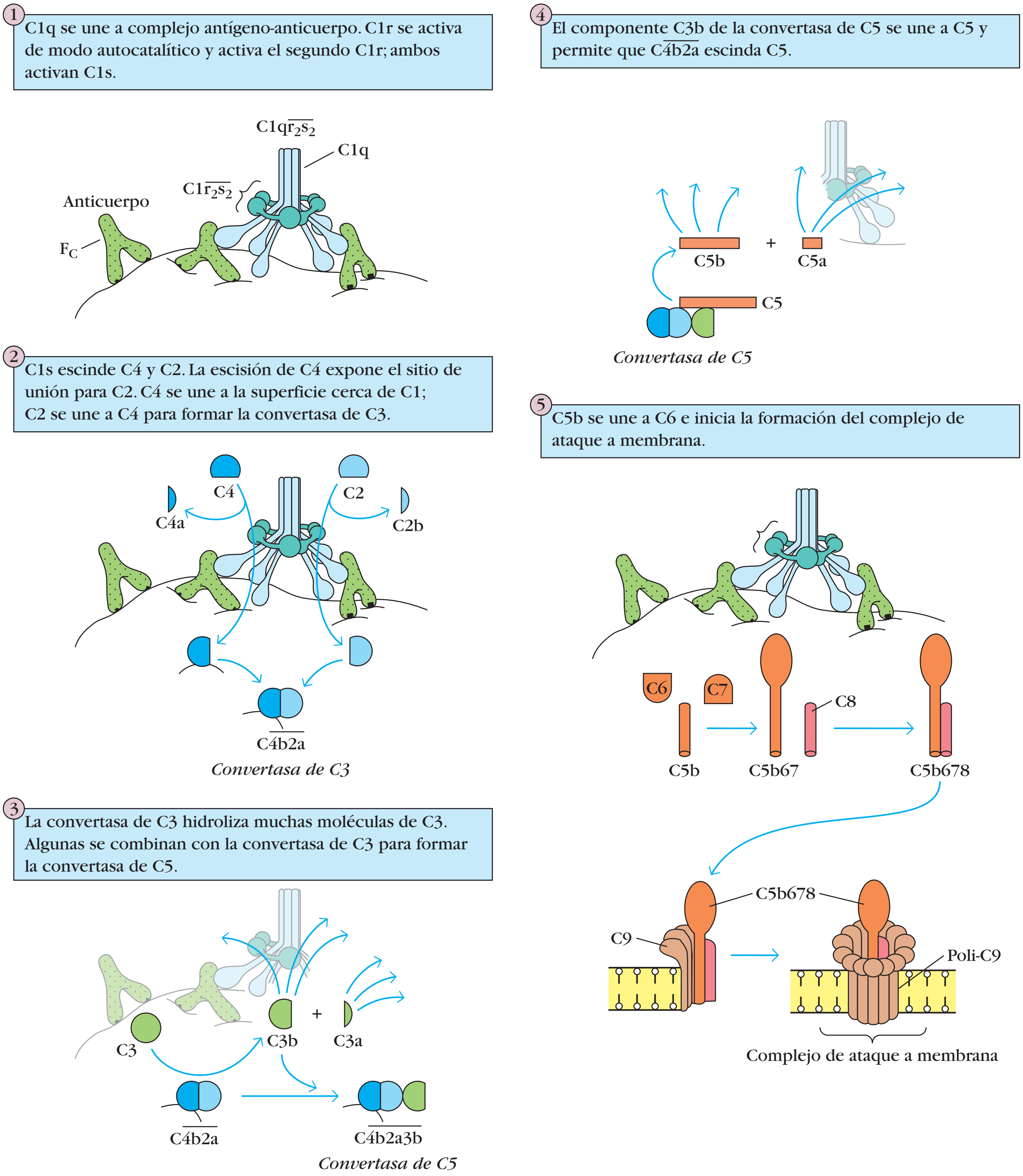


FIGURA 7-4 Modelos de IgM pentamérica en forma plana (a) y de "grapa" (b). Varios sitios de unión de C1q en la región Fc son accesibles en la forma en grapa, en tanto que en la forma plana no se expone ninguno. Micrografías electrónicas de anticuerpo antiflagelo IgM unido a flagelos; se muestran las formas plana (c) y de grapa (d). *[Tomada de A. Feinstein et al., 1981,* Monographs in Allergy ***17:****28, y 1981,* Annals of the New York Academy of Sciences ***190:****1104.]*

FIGURA 7-5 PARA VISUALIZACIÓN DE CONCEPTOS: Diagrama esquemático de los intermediarios en la vía clásica de activación del complemento



① C1q se une a complejo antígeno-anticuerpo. C1r se activa de modo autocatalítico y activa el segundo C1r; ambos activan C1s.

② C1s escinde C4 y C2. La escisión de C4 expone el sitio de unión para C2. C4 se une a la superficie cerca de C1; C2 se une a C4 para formar la convertasa de C3.

③ La convertasa de C3 hidroliza muchas moléculas de C3. Algunas se combinan con la convertasa de C3 para formar la convertasa de C5.

④ El componente C3b de la convertasa de C5 se une a C5 y permite que C$\overline{4b2a}$ escinda C5.

⑤ C5b se une a C6 e inicia la formación del complejo de ataque a membrana.

C1q$\overline{r_2s_2}$
C1q
C1$\overline{r_2s_2}$
Anticuerpo
F_C
C4
C2
C4a
C2b
C$\overline{4b2a}$
Convertasa de C3
C3
C3b
+
C3a
C$\overline{4b2a}$
C$\overline{4b2a3b}$
Convertasa de C5
C5b
+
C5a
C5
Convertasa de C5
C6
C7
C8
C5b
C5b67
C5b678
C9
C5b678
Poli-C9
Complejo de ataque a membrana

El complejo de ataque a membrana completo (MAC, abajo a la derecha) forma un poro grande en la membrana.

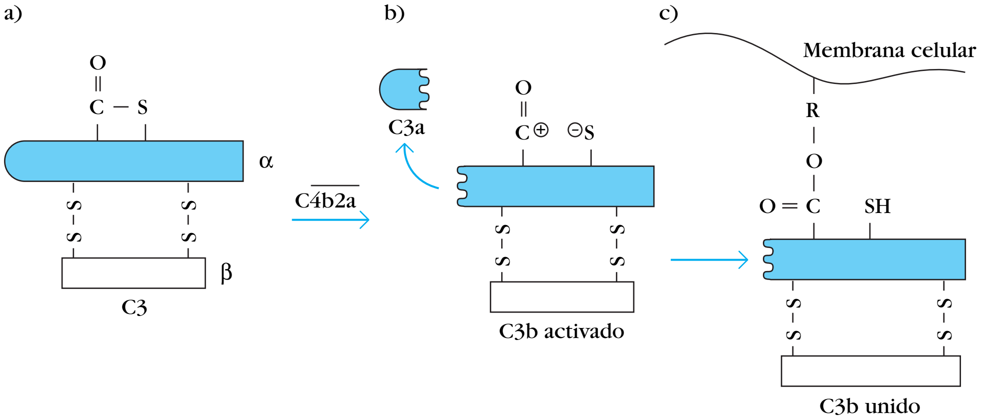


FIGURA 7-6 Hidrólisis de C3 por la convertasa de C3 C$\overline{4b2a}$. a) C3 nativo. b) C3 activado que muestra el sitio de escisión por C$\overline{4b2a}$; ésta tiene como resultado la producción de los fragmentos C3a y C3b. c) Se activa un enlace tioéster interno lábil en C3 a medida que se forma C3b, que permite que el fragmento C3b se una a grupos hidroxilo o amino libres (R) en una membrana celular. La C3b unida muestra diversas actividades biológicas, que incluyen la unión de C5 y la unión a receptores C3b en células fagocíticas.

pequeño (C4a) del extremo amino terminal de la cadena α, lo que expone un sitio de unión en el fragmento más grande (C4b). El fragmento C4b se fija a la superficie blanco en la cercanía de C1 y a continuación la proenzima C2 lo hace al sitio de unión expuesto en C4b, mientras que la C$\overline{1s}$ vecina escinde C2; el fragmento más pequeño (C2b) se difunde. El complejo C$\overline{4b2a}$ resultante se denomina convertasa de C3, lo que hace referencia a su acción de convertir C3 en una forma activa. El fragmento más pequeño de la escisión de C4, C4a, es una anafilatoxina, o mediador de la inflamación, que no participa de modo directo en la función lítica de la cascada del complemento; más adelante se describen las anafilatoxinas, que incluyen los fragmentos más pequeños de C4, C3 y C5.

El componente C3 nativo consta de dos cadenas polipeptídicas, α y β. La hidrólisis de un fragmento corto (C3a) del extremo amino terminal de la cadena α por la convertasa de C3 genera C3b (fig. 7-6). Una molécula de convertasa de C3 individual puede generar más de 200 moléculas de C3b, lo cual tiene como resultado una gran amplificación en esta etapa de la secuencia. Parte de C3b se une a C$\overline{4b2a}$ para formar un complejo trimolecular, C$\overline{4b2a3b}$, llamado convertasa de C5. El componente C3b de este complejo se une a C5 y altera su conformación, de tal forma que el componente C$\overline{4b2a}$ puede escindir C5 en C5a, que se difunde, y C5b, que se fija a C6 e inicia la formación del complejo de ataque a membrana en una secuencia que se describe más adelante. Parte de la C3b generada por la actividad de la convertasa de C3 no se une a C$\overline{4b2a}$, sino que se difunde y a continuación cubre inmunocomplejos y antígenos particulados, por lo que funciona como una opsonina o promotor de la fagocitosis. El C3b también puede unirse de modo directo a membranas celulares.

La vía alterna es independiente de anticuerpo

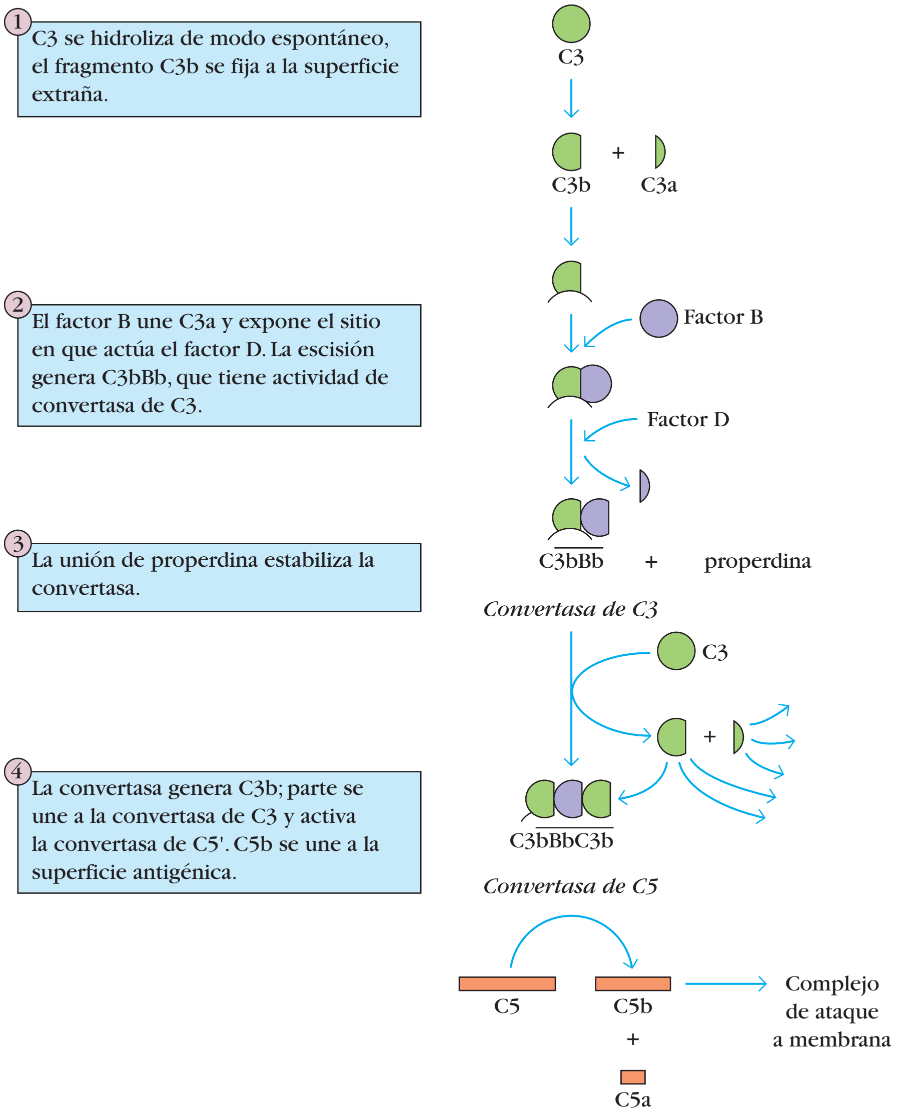
La vía alterna genera productos activos similares a los de la vía clásica, pero lo hace sin necesidad de complejos de antígeno y anticuerpo para iniciarse. Debido a que no se requiere anticuerpo, la vía alterna es un componente del sistema inmunitario innato. Esta vía mayor de activación del complemento incluye cuatro proteínas séricas: C3, factor B, factor D y properdina. La vía alterna es iniciada en la mayor parte de los casos por constituyentes de superficie celular que son extraños al hospedador (cuadro 7-1). Por ejemplo, las bacterias gramnegativas y grampositivas tienen constituyentes en la pared celular capaces de activar la vía

CUADRO 7-1 Iniciadores de la vía alterna de activación del complemento

PATÓGENOS Y PARTÍCULAS DE ORIGEN MICROBIANO
Muchas cepas de bacterias gramnegativas
Lipopolisacáridos de bacterias gramnegativas
Muchas cepas de bacterias grampositivas
Ácido teicoico de paredes de células grampositivas
Paredes de células micóticas y levaduras (zimosán)
Algunos virus y células infectadas por virus
Algunas células tumorales (Raji)
Parásitos (tripanosomas)
NO PATÓGENOS
IgG, IgA e IgE humanos en complejos
IgG de conejo y cobayo en complejos
Factor de veneno de cobra
Eritrocitos heterólogos (conejo, ratón, pollo)
Polímeros aniónicos (sulfato de dextrán)
Carbohidratos puros (agarosa, inulina)

FUENTE: Adaptado de M. K. Pangburn, 1986, en *Immunobiology of the Complement System*, G. Ross, ed., Academic Press, Orlando.

FIGURA 7-7 PARA VISUALIZACIÓN DE CONCEPTOS: Diagrama esquemático de los intermediarios en la formación de C5b unida por la vía alterna de activación del complemento


① C3 se hidroliza de modo espontáneo, el fragmento C3b se fija a la superficie extraña.

② El factor B une C3a y expone el sitio en que actúa el factor D. La escisión genera C3bBb, que tiene actividad de convertasa de C3.

③ La unión de properdina estabiliza la convertasa.

④ La convertasa genera C3b; parte se une a la convertasa de C3 y activa la convertasa de C5'. C5b se une a la superficie antigénica.

El complejo C3bBb es estabilizado por la unión de properdina. La conversión de C5b unido a complejo de ataque a membrana ocurre por la misma secuencia de reacciones que en la vía clásica (fig. 7-5).

alterna. En la figura 7-7 se muestran de manera esquemática los intermediarios en la vía alterna para generar C5b.

En la vía clásica, C3 se escinde con rapidez en C3a y C3b por la actividad enzimática de la convertasa de C3. En la vía alterna, el C3 sérico, que contiene un enlace tioéster inestable, sufre hidrólisis espontánea lenta para producir C3a y C3b. El componente C3b puede unirse a antígenos de superficie extraños (como los de las células bacterianas o partículas víricas) o incluso a células del hospedador (fig. 7-6c). Las membranas de la mayoría de las células de mamífero tienen concentraciones altas de ácido siálico, que contribuye a la desactivación rápida de moléculas C3b unidas en células del hospedador; en consecuencia, esta unión rara vez precipita reacciones adicionales en las membranas de la célula hospedadora. Debido a que muchas superficies antigénicas extrañas (p. ej., paredes celulares bacterianas y de levadura y ciertas envolturas víricas) sólo tienen concentraciones bajas de ácido siálico, el C3b que se une a estas superficies permanece activo más tiempo. El C3b que se encuentra en la superficie de las células extrañas puede unir otra proteína sérica llamada factor B para formar un complejo estabilizado por Mg^{2+}. La unión a C3b expone un sitio en el factor B que sirve como sustrato para una proteína sérica con actividad enzimática llamada factor D. Este último escinde el factor B unido a C3b, con lo que se libera un fragmento pequeño (Ba) —que se difunde— y se genera $\overline{\text{C3bBb}}$. Este complejo $\overline{\text{C3bBb}}$ posee actividad de convertasa de C3 y, por consiguiente, es análogo del complejo $\overline{\text{C4b2a}}$ en la vía clásica. La actividad de convertasa de C3 del $\overline{\text{C3bBb}}$ tiene vida media limitada, a menos que se una a él la proteína sérica properdina.

El $\overline{\text{C3bBb}}$ que se genera en la vía alterna puede activar C3 no hidrolizado para liberar más C3b de modo autocatalítico. Como resultado, se repiten y amplifican las etapas iniciales de manera que pueden depositarse más de 2×10^6 moléculas de C3b en una superficie antigénica en menos de cinco minutos. La actividad de convertasa de C3 del $\overline{\text{C3bBb}}$ genera el complejo $\overline{\text{C3bBb3b}}$, que muestra actividad de convertasa de C5 y es análogo al complejo $\overline{\text{C4b2a3b}}$ en la vía clásica. El componente C3b no enzimático se une a C5, y el componente Bb hidroliza de manera subsecuente el C5 unido para generar C5a y C5b (fig. 7-7); este último se une a la superficie antigénica, lo que da comienzo a la fase final del ciclo lítico.

La vía de lectina se inicia con la unión de proteínas del hospedador a superficies microbianas

Las lectinas son proteínas que reconocen como blancos carbohidratos específicos y se unen a ellos. Puesto que la lectina que activa el complemento se une a residuos manosa, algunos autores llaman a esta vía la vía de MBL o vía de lectina de unión a manano. Al igual que en el caso de la vía alterna, la activación de la vía de lectina no depende de anticuerpos. Sin embargo, el mecanismo es más similar al de la vía clásica que al de la vía alterna, porque después de iniciarse prosigue a través de la acción de C4 y C2 para producir proteínas activadas del sistema del complemento (fig. 7-2).

La vía de lectina se activa cuando la lectina de unión a manosa (MBL, del inglés *mannose-binding lectin*) se une a residuos manosa en glucoproteínas o carbohidratos sobre la superficie de microorganismos, incluidas ciertas cepas de *Salmonella*, *Listeria* y *Neisseria*, además de los hongos *Cryptococcus neoformans* y *Candida albicans* y algunos virus, como VIH-1 y virus sincicial respiratorio. Las células humanas normalmente tienen residuos de ácido siálico que cubren los grupos azúcar reconocidos por MBL, y no son blancos para la unión.

La MBL, miembro de la familia de las colectinas, es una proteína de fase aguda y su concentración aumenta durante las reacciones inflamatorias. Su función en la vía del complemento es similar a la del Clq, al que se asemeja en estructura (fig. 7-3). Después de que la MBL se une a los residuos carbohidrato en la superficie de una célula o patógeno, a ella se fijan las proteasas de serina relacionadas con MBL, MASP-1 y MASP-2. El complejo activo formado por esta vinculación causa escisión y activación de C4 y C2. Las proteínas MASP-1 y MASP-2 tienen similitudes estructurales con C1r y C1s e imitan sus actividades. Este modo de activar los componentes C2 a C4 para formar una convertasa de C5 sin necesidad de unión de anticuerpo específico representa un mecanismo innato de defensa importante comparable a la vía alterna, pero que utiliza los elementos de la vía clásica, excepto las proteínas C1.

Las tres vías del complemento convergen en el complejo de ataque a membrana

La secuencia terminal de activación del complemento incluye C5b, C6, C7, C8 y C9, que interactúan de manera secuencial para formar una estructura macromolecular denominada **complejo de ataque a membrana** (**MAC**, del inglés *membrane-attack complex*). Este complejo forma un conducto grande a través de la membrana de la célula blanco, que permite la libre difusión de iones y moléculas pequeñas a través de la membrana.

El resultado final de la activación de las vías clásica, alterna o de lectina es la producción de una convertasa de C5 activa. Esta enzima escinde C5, que contiene dos cadenas proteínicas, α y β. Después de la unión de C5 al componente C3b no enzimático de la convertasa, el extremo amino terminal de la cadena α se escinde. Esto crea el fragmento pequeño C5a, que se difunde, y el fragmento C5b grande, que se une a la superficie de la célula blanco y proporciona un sitio de unión para los componentes subsecuentes del complejo de ataque a membrana (fig. 7-5, paso 5). El componente C5b es en extremo lábil y se desactiva con rapidez a menos que se una a C6 y se estabilice su actividad.

Hasta este punto, todas las reacciones del complemento se llevan a cabo en la superficie hidrófila de membranas o en inmunocomplejos en la fase líquida. A medida que se une C5b6 a C7, el complejo resultante experimenta una transición estructural que expone regiones hidrófobas, que sirven como sitios de unión para fosfolípidos de membrana. Si la reacción ocurre en

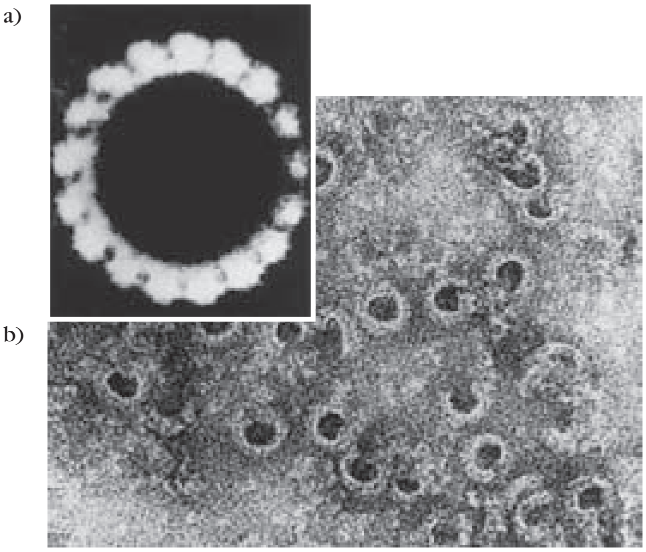


FIGURA 7-8 **a) Micrografía del complejo poli-C9 formado por la polimerización de C9 in vitro. b) Micrografía de lesiones inducidas por complemento en la membrana de un glóbulo rojo.** Estas lesiones resultan de la formación de complejos de ataque a membrana. *[Parte a de E. R. Podack, 1986, en* Immunobiology of the Complement System, *G. Ross, ed., Academic Press, Orlando; parte b de J. Humphrey y R. Dourmashkin, 1969,* Advances in Immunology ***11****:75.]*

la membrana de una célula blanco, los sitios de unión hidrófobos permiten que el complejo C5b67 se inserte dentro de la bicapa fosfolípida. Sin embargo, si la reacción tiene lugar en un inmunocomplejo u otra superficie de activación no celular, entonces los sitios de unión hidrófobos no pueden fijar ("anclar") el complejo y éste se libera. Los complejos C5b67 liberados pueden insertarse en la membrana de células cercanas y mediar la lisis de "espectadores inocentes". En condiciones normales, las proteínas reguladoras impiden que esto suceda, pero en ciertas enfermedades el daño celular y tisular puede ser efecto de dicha lisis. En el enfoque clínico se explica un trastorno hemolítico que resulta de una deficiencia en una proteína reguladora, y en el capítulo 15 se considera un proceso autoinmunitario en el cual inmunocomplejos median el daño tisular.

La unión de C8 a C5b67 unido a la membrana induce un cambio de conformación de C8, de tal manera que sufre una transición estructural que expone una región hidrófoba; ésta interactúa con la membrana plasmática. El complejo C5b678 crea un poro pequeño de 10 Å de diámetro; la formación de este poro puede conducir a lisis de glóbulos rojos pero no de células nucleadas. La etapa final en la formación del MAC es la unión y polimerización de C9, una molécula parecida a perforina, al complejo C5b678. Pueden unirse y polimerizarse hasta 10 a 17 moléculas de C9 por acción de un solo complejo C5b678. Durante la polimerización, las moléculas C9 experimentan una transición, de tal forma que también pueden insertarse en la membrana. El MAC terminado, que tiene forma tubular y tamaño de poro funcional de 70 a 100 Å, consiste en un complejo C5b678 rodeado por un complejo poli-C9 (fig. 7-8). Debido a que los iones y las moléculas pequeñas pueden difundirse con libertad a través del conducto central del MAC, la célula no puede conservar su estabilidad osmótica y es destruida por la entrada de agua y la pérdida de electrólitos. La cascada de sucesos para las tres vías de activación del complemento se resumen en la figura 7-9.

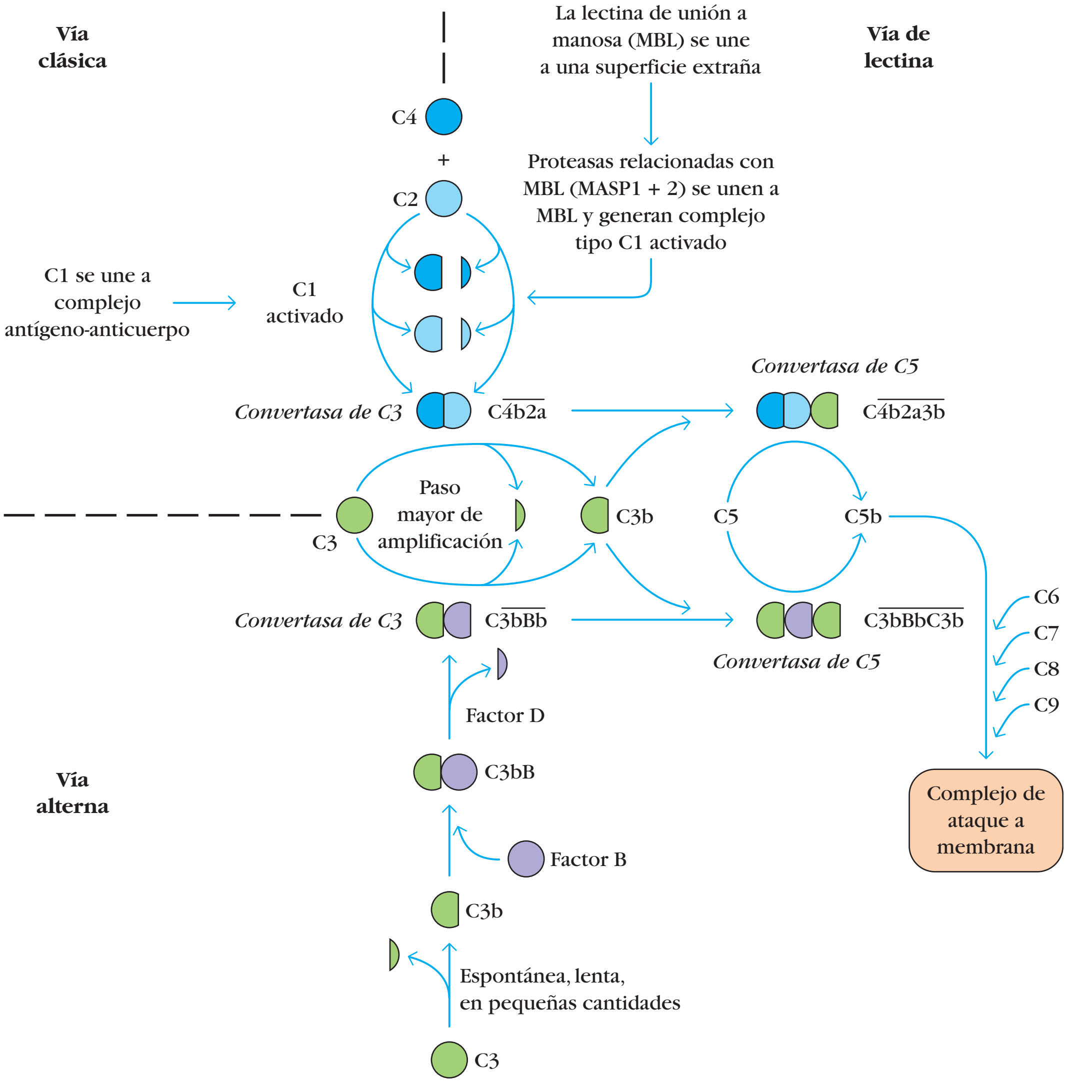

Vía clásica
La lectina de unión a manosa (MBL) se une a una superficie extraña
Vía de lectina
C4
+
C2
Proteasas relacionadas con MBL (MASP1 + 2) se unen a MBL y generan complejo tipo C1 activado
C1 se une a complejo antígeno-anticuerpo
C1 activado
Convertasa de C5
Convertasa de C3
C4b2a
C4b2a3b
Paso mayor de amplificación
C3
C3b
C5
C5b
Convertasa de C3
C3bBb
C3bBbC3b
Convertasa de C5
C6
C7
C8
C9
Factor D
C3bB
Vía alterna
Complejo de ataque a membrana
Factor B
C3b
Espontánea, lenta, en pequeñas cantidades
C3

FIGURA 7-9 Resumen de las tres vías de activación del complemento. Se muestra el inicio ya sea por la vía clásica, a partir de la unión de C1 a un complejo antígeno-anticuerpo, o por las vías alterna o de lectina, que son independientes de anticuerpo. Todas las vías convierten C3 en su forma activa, C3b, que participa en la formación de una convertasa de C5. Con la formación de C5b, las tres vías convergen para generar el complejo de ataque a membrana.

Regulación del sistema del complemento

Debido a que muchos elementos del sistema del complemento son capaces de atacar tanto células del hospedador como células extrañas y microorganismos, varios mecanismos reguladores complejos han surgido por evolución para restringir la actividad del complemento a los blancos designados. Un mecanismo pasivo de regulación en todas las vías del complemento es la inclusión de componentes muy lábiles que sufren desactivación espontánea si no son estabilizados por una reacción con otros componentes. Por ejemplo, la actividad de convertasa de CD3 generada en la vía alterna tiene vida media activa de sólo 5 min a menos que dicha enzima sea estabilizada por reacción con properdina. La regulación activa de la actividad del complemento corre a cargo de una serie de proteínas reguladoras que desactivan diversos componentes del complemento (cuadro 7-2). Así, la glucoproteína denominada inhibidor de C1 (C1Inh) puede formar un complejo con $C1r_2s_2$, con lo cual determina que se disocie de C1q y previene la activación adicional de C4 o C2 (fig. 7-10a).

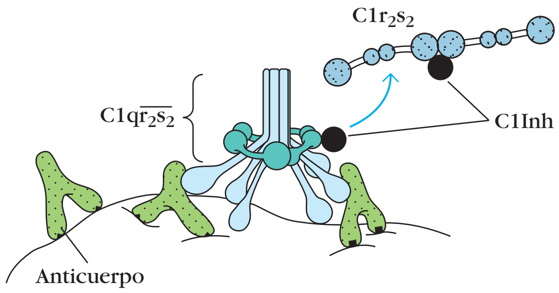
La reacción catalizada por enzimas convertasas C3 de las vías clásica, de lectina y alterna es el paso principal de amplificación en la activación del complemento, que genera cientos de moléculas de C3b. El C3b generado por estas enzimas tiene el potencial de unirse a células cercanas y mediar el daño a las células sanas por la inducción del complejo de ataque a membrana. El daño a células normales del hospedador se minimiza porque C3b sufre hidrólisis espontánea para el momento en que se ha difundido a una distancia de 40 nm respecto de las enzimas convertasas $C\overline{4b2a}$ o $C\overline{3bBb}$, de tal modo que ya no puede unirse más a su sitio blanco. La posible destrucción de células sanas del hospedador por C3b es limitada adicionalmente por una familia de proteínas relacionadas que regulan la actividad de convertasa de C3 en las vías clásica y alterna. Todas estas proteínas reguladoras contienen secuencias (motivos) repetitivas de aminoácidos de unos 60 residuos, llamadas *repeticiones de consenso cortas* (SCR, del inglés *short consensus repeats*). En el ser humano, todas estas proteínas se codifican en un mismo sitio en el cromosoma 1, que se conoce como grupo génico de *reguladores de la activación del complemento* (RCA, del inglés *regulators of complement activation*).

CUADRO 7-2 **Proteínas que regulan el sistema del complemento**

Proteína	Tipo de proteína	Vía afectada	Función inmunitaria
Inhibidor de C1 (C1Inh)	Soluble	Clásica	Inhibidor de proteasa de serina: causa la disociación de $C1r_2s_2$ a partir de C1q
Proteína de unión a C4b (C4bBP)*	Soluble	Clásica y de lectina	Bloquea la formación de convertasa de C3 por unión de C4b; cofactor para la escisión de C4b por factor I
Factor H*	Soluble	Alterna	Bloquea la formación de convertasa de C3 por unión de C3b; cofactor para la escisión de C3b por factor I
Receptor de complemento tipo 1 (CR1 o CD35)* Proteína cofactor de membrana (MCP o CD46)*	Unida a membrana	Clásica, alterna y de lectina	Bloquea la formación de convertasa de C3 por unión de C4b o C3b; cofactor para la escisión de C4b o C3b catalizada por factor I
Factor acelerador de la degradación (DAF o CD55)*	Unida a membrana	Clásica, alterna y de lectina	Acelera la disociación de $C\overline{4b2a}$ y $C\overline{3bBb}$ (convertasas de C3 clásica y alterna)
Factor I	Soluble	Clásica, alterna y de lectina	Proteasa de serina: escinde C4b o C3b mediante C4bBP, CR1, factor H, DAE o MCP como cofactor
Proteína S	Soluble	Terminal	Se une a C5b67 soluble y evita su inserción en la membrana celular
Factor de restricción homólogo (HRF), también llamado inhibidor de membrana de lisis reactiva (MIRL o CD59)*	Unida a membrana	Terminal	Se une a C5b678 en células autólogas, bloquea la unión de C9
Desactivador de anafilatoxina	Soluble	Efectora	Inhibe la actividad de anafilatoxina de C3a, C4a y C5a por eliminación de arginina de extremo C terminal catalizada por carboxipeptidasa N

*Una proteína RCA (regulador de la activación del complemento). En el ser humano, todas las proteínas RCA se codifican en el cromosoma 1 y contienen repeticiones de consenso cortas.

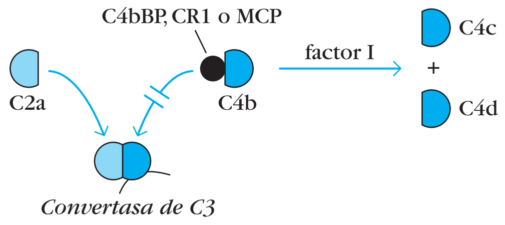
FIGURA 7-10 PARA VISUALIZACIÓN DE CONCEPTOS: Regulación del sistema del complemento por proteínas reguladoras


$C1r_2s_2$
$C1q\overline{r_2s_2}$
C1Inh
Anticuerpo

Regulación del sistema del complemento

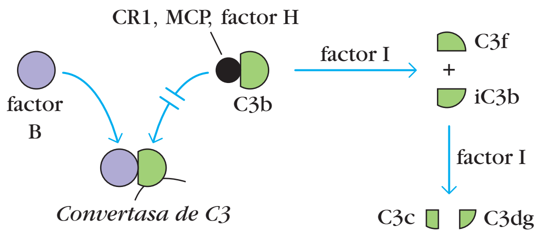
a) Antes del ensamblaje de la actividad de convertasa

① El inhibidor C1 (C1Inh) se une a $C1r_2s_2$ y causa la disociación de C1q.


C4bBP, CR1 o MCP
factor I
C4c
+
C4d
C2a
C4b
Convertasa de C3

② La asociación de C4b y C2a es bloqueada por la unión de proteína de unión a C4b (C4bBP), receptor de complemento tipo I o proteína cofactor de membrana (MCP).

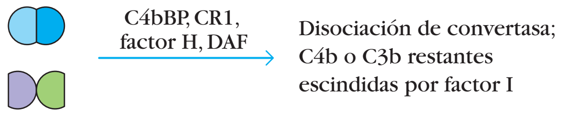
③ C4b unida a inhibidor escindido por factor I.


CR1, MCP, factor H
factor I
C3f
+
iC3b
factor B
C3b
factor I
Convertasa de C3
C3c
C3dg

④ En la vía alterna, CR1, MCP o factor H impiden la unión de C3b y factor B.

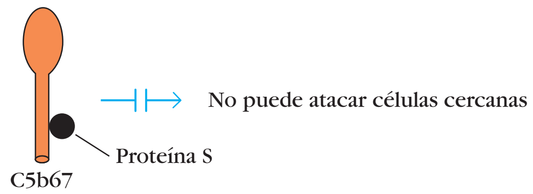
⑤ C3b unida a inhibidor escindido por factor I.

b) Después del ensamblaje de la convertasa


C4bBP, CR1,
factor H, DAF
Disociación de convertasa;
C4b o C3b restantes
escindidas por factor I

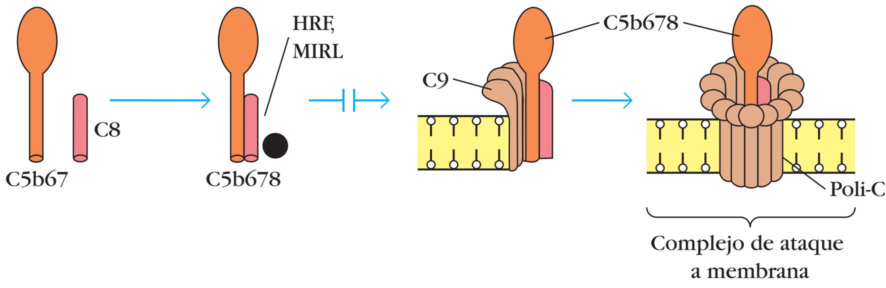
Las convertasas de C3 se disocian por acción de C4bBP, CR1, factor H y factor acelerador de la degradación (DAF).

c) Regulación en el ensamblaje del complejo de ataque a membrana (MAC)


No puede atacar células cercanas
Proteína S
C5b67

① La proteína S impide la inserción del componente C5b67 del MAC en la membrana.

② El factor de restricción homólogo (HRF) y el inhibidor de membrana de lisis reactiva (MIRL o CD59) unen C5b678 y evitan el ensamblaje de poli-C9 y bloquean la formación de MAC.


C8
C5b67
HRF,
MIRL
C5b678
C9
C5b678
Poli-C9
Complejo de ataque
a membrana

Estas proteínas (en negro) actúan en diversos puntos de la cascada del complemento.

En las vías clásica y de lectina actúan de manera similar tres proteínas RCA, distintas desde el punto de vista estructural, para prevenir el ensamblaje de convertasa de C3 (fig. 7-10a[2]). Estas proteínas reguladoras incluyen la proteína de unión de C4b soluble (C4bBP) y dos proteínas de unión a membrana, a saber receptor de complemento tipo 1 (CR1) y proteína cofactor de membrana (MCP). Cada una de estas proteínas reguladoras se une a C4b y evita su vinculación con C2a. Una vez que C4bBP, CRI o MCP se unen a C4b, otra proteína reguladora, factor I, escinde C4b en C4d unida y C4c soluble (fig. 7-10a[3]). Una secuencia reguladora similar previene el ensamblaje de C3bBb (una convertasa de C3) en la vía alterna. En este caso, CR1, MCP o un componente regulador denominado factor H se unen a C3b y previenen su enlace a factor B (fig. 7-10a[4]). Una vez que CRI, MCP o factor H se unen a C3b, el factor I escinde C3b en un fragmento iC3b unido y un fragmento C3f soluble. La escisión adicional de iC3b por el factor I libera C3c y deja a C3dg unido a la membrana (fig. 7-10a[5]). En la figura 7-11 se muestran los fenómenos moleculares que participan en la regulación de C4b y C3b unidos a la célula.

Varias proteínas RCA también actúan sobre la convertasa de C3 ensamblada y dan lugar a su disociación; incluyen C4bBP (mencionada con anterioridad), CR1 y factor H. Además, el factor acelerador de la degradación (DAF o CD55), que es una glucoproteína fijada de manera covalente a una proteína de membrana glucofosfolipídica, tiene la capacidad de disociar la convertasa de C3. En el enfoque clínico se describen las consecuencias de la deficiencia de DAF. Cada una de estas proteínas RCA acelera la degradación (disociación) de la convertasa de C3 al liberar el componente con actividad enzimática (C2a o Bb) del componente unido a la célula (C4b o C3b). Una vez que ocurre la disociación de la convertasa de C3, el factor I escinde el componente C4b o C3b unido a membrana restante, lo que desactiva de manera irreversible a la convertasa (fig. 7-10b).

Las proteínas reguladoras también operan a nivel del complejo de ataque a membrana. La posible liberación del complejo C5b67 implica una amenaza de lisis de espectador inocente para células sanas. Varias proteínas séricas contrarrestan esta amenaza al unirse al C5b67 liberado e impedir su inserción en la membrana de células cercanas. Una proteína sérica llamada proteína S puede unirse a C5b67 e inducir una transición, con lo que impide la inserción de C5b67 en la membrana de células cercanas (fig. 7-10c[1]).

La lisis de células mediada por complemento es más eficaz si el complemento proviene de una especie diferente a la de las células que se lisan. Este fenómeno depende de una proteína de membrana que bloquea la formación del complejo de ataque a membrana (MAC). Esta proteína, que se encuentra en la membrana de muchos tipos de células, se denomina *factor de restricción homólogo* (*HRF*, del inglés *homologous restriction factor*) o *inhibidor de membrana de lisis reactiva* (*MIRL*, del inglés *membrane inhibitor of reactive lysis* o *CD59*). Protege a las células de la lisis inespecífica mediada por complemento al unirse a C8, con lo que impide el ensamblaje de poli-C9 y su inserción en la membrana plasmática (fig. 7-10c[2]). Sin embargo, esta inhibición

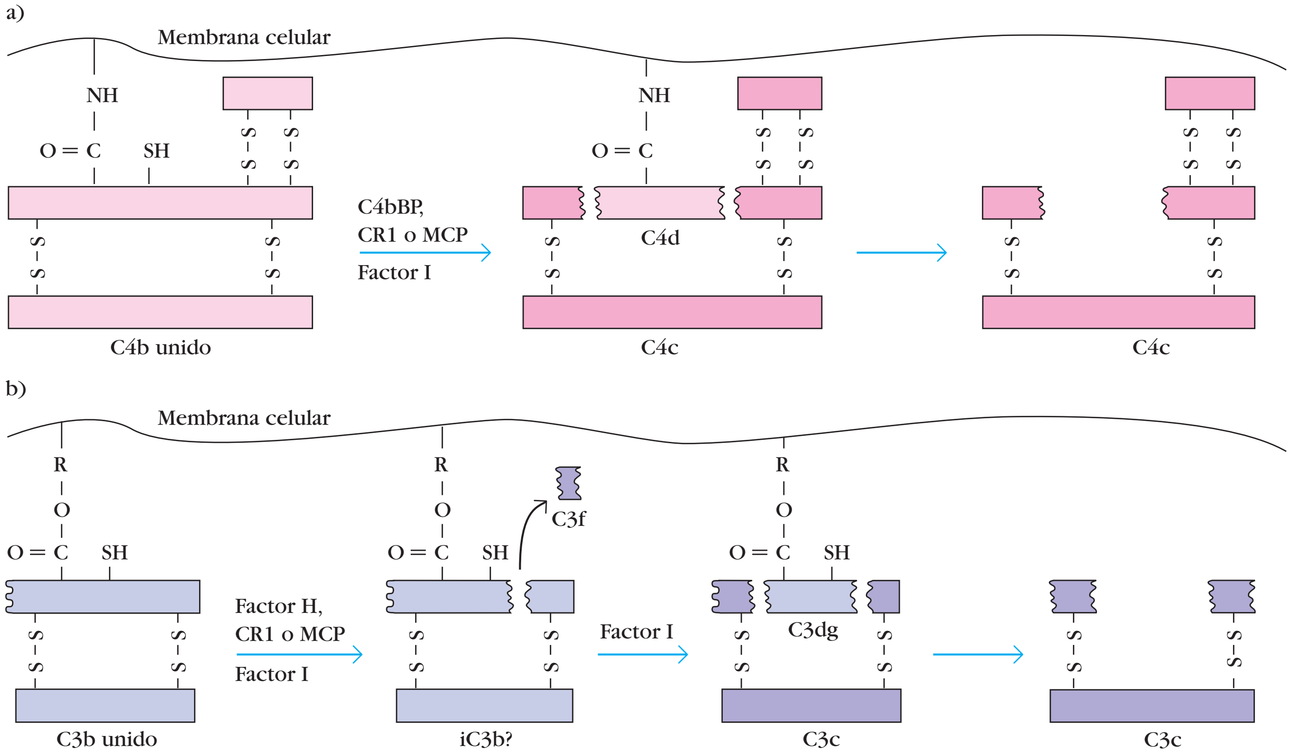


FIGURA 7-11 Desactivación de C4b y C3b (unidos) por proteínas reguladoras del sistema del complemento. a) En la vía clásica, C4bBP (proteína de unión de C4b), CR1 (receptor de complemento tipo 1) o MCP (proteína cofactor de membrana) se unen a C4b y actúan como cofactores para la escisión de C4b mediada por factor I. b) En la vía alterna, factor H, CR1 o MCP se unen a C3b y actúan como cofactores para la escisión de C3b mediada por factor I. Los fragmentos difusibles libres se muestran con sombreado oscuro y los componentes unidos a membrana con sombreado claro.

sólo ocurre si los componentes del complemento provienen de la misma especie que las células blanco. Por ello, se dice que CD59 exhibe restricción homóloga, de ahí su nombre original.

Consecuencias biológicas de la activación del complemento

El complemento sirve como un mediador importante de la reacción humoral porque amplifica la respuesta y la convierte en un mecanismo de defensa eficaz para destruir microorganismos invasores. El MAC media la lisis celular, en tanto que otros componentes del complemento o productos de escisión participan en la reacción inflamatoria, la opsonización de antígeno, la neutralización vírica y la depuración de inmunocomplejos (cuadro 7-3).

Muchas de las actividades biológicas del sistema del complemento dependen de la unión de fragmentos del complemento a receptores de él, que diversas células expresan. Además, algunos receptores de complemento tienen una función importante en la regulación de la actividad del complemento por la unión de componentes del complemento con actividad biológica. En el cuadro 7-4 se relacionan los receptores de complemento y sus ligandos primarios, que incluyen varios componentes del complemento y sus productos de degradación proteolítica.

El complejo de ataque a membrana puede lisar una amplia gama de células

El complejo de ataque a membrana formado por la activación del complemento puede lisar bacterias gramnegativas, parásitos, virus, eritrocitos y células nucleadas. Puesto que las vías de activación alterna y de lectina suelen actuar sin ninguna interacción inicial de antígeno y anticuerpo, estas vías sirven como defensas inmunitarias innatas importantes contra microorganismos infecciosos. La necesidad de una reacción inicial de antígeno y anticuerpo en la vía clásica completa estas defensas innatas inespecíficas con un mecanismo de defensa más específico. En algunos casos, la necesidad de anticuerpo en el fenómeno activador es satisfecha por los llamados anticuerpos naturales, que se secretan contra componentes comunes de microorganismos ampliamente difundidos.

Ya se resaltó en capítulos anteriores la importancia de la inmunidad mediada por células en la defensa de hospedador contra infecciones víricas. No obstante, el anticuerpo y el complemento tienen un papel en la defensa de hospedador contra virus y, con frecuencia, son cruciales para contener la diseminación vírica durante una infección aguda y para proteger contra una nueva infección. La mayor parte de los virus envueltos —o quizá todos— son susceptibles a la lisis mediada por complemento. La envoltura vírica deriva en buena proporción de la membrana plasmática de células del hospedador infectado y, por consiguiente, es susceptible a la formación de poro por el complejo de ataque a membrana. Entre los virus patógenos susceptibles de lisis mediada por complemento se encuentran virus del herpes, ortomixovirus, como los que causan sarampión y paperas, paramixovirus como el de la gripe, y retrovirus.

Por lo general, el sistema del complemento es muy eficaz para lisar bacterias gramnegativas (fig. 7-12). Sin embargo, algunas de estas últimas y la mayor parte de las bacterias grampositivas tienen mecanismos para evitar el daño mediado por complemento (cuadro 7-5). Por ejemplo, algunas bacterias gramnegativas pueden desarrollar resistencia a lisis mediada por complemento que se correlaciona con la virulencia del microorganismo. En *Escherichia coli* y *Salmonella,* la resistencia al

CUADRO 7-3 Resumen de los efectos biológicos mediados por productos del complemento

Efecto	**Producto del complemento mediador***
Lisis celular	C5b-9, el complejo de ataque a membrana (MAC)
Reacción inflamatoria	
Desgranulación de células cebadas y basófilos†	C3a, C4a y C5a (anafilatoxinas)
Desgranulación de eosinófilos	C3a, **C5a**
Extravasación y quimiotaxis de leucocitos en el sitio inflamatorio	C3a, **C5a**, C5b67
Agregación de plaquetas	C3a, C5a
Inhibición de la migración de monocitos/macrófagos e inducción de su diseminación	Bb
Liberación de neutrófilos de la médula ósea	C3c
Liberación de enzimas hidrolíticas de neutrófilos	C5a
Incremento de la expresión de receptores del complemento tipos 1 y 3 (CR1 y CR3) en neutrófilos	C5a
Opsonización de antígenos particulados, lo que incrementa su fagocitosis	**C3b**, C4b, iC3b
Neutralización vírica	C3b, C5b-9 (MAC)
Solubilización y depuración de inmunocomplejos	C3b

*El componente en negritas es el más importante en la medición del efecto indicado.

†La desgranulación origina liberación de histamina y otros mediadores que inducen contracción del músculo liso e incremento de la permeabilidad vascular.

CUADRO 7-4 Receptores de unión del complemento

Receptor	Ligandos principales	Actividad	Distribución celular
CR1 (CD35)	C3b, C4b	Bloquea la formación de convertasa de C3; une inmunocomplejos a células	Eritrocitos, neutrófilos, monocitos, macrófagos, eosinófilos, células dendríticas foliculares, células B, algunas células T
CR2 (CD21)	C3d, C3dg,* iC3b	Parte del correceptor de célula B; une virus de Epstein-Barr	Células B, células dendríticas foliculares, algunas células T
CR3 (CD11b/18) CR4 (CD11c/18)	iC3b	Une moléculas de adhesión celular en neutrófilos, facilita su extravasación; se une a inmunocomplejos e incrementa su fagocitosis	Monocitos, macrófagos, neutrófilos, células asesinas naturales, algunas células T
Receptor de C3a/C4a	C3a, C4a	Induce la desgranulación de células cebadas y basófilos	Células cebadas, basófilos, granulocitos
Receptor de C5a	C5a	Induce la desgranulación de células cebadas y basófilos	Células cebadas, basófilos, granulocitos, monocitos, macrófagos, plaquetas, células endoteliales

*La escisión de C3dg por proteasas séricas genera C3d y C3g.

complemento se relaciona con el fenotipo bacteriano liso, que se caracteriza por la presencia de largas cadenas laterales de polisacárido en el componente lipopolisacárido (LPS) de la pared celular. Se ha propuesto que el incremento de LPS en la pared de cepas resistentes puede prevenir la inserción del MAC en la membrana bacteriana, de tal manera que en lugar de formarse un poro el complejo se libera de la célula bacteriana. Se ha observado una relación entre infecciones gonocócicas diseminadas (también conocidas como artritis gonocócica) en el ser humano y cepas de *Neisseria gonorrhoeae* resistentes a la destrucción mediada por complemento. Algunas pruebas sugieren que las proteínas de membrana de cepas de *Neisseria* resistentes experimentan interacciones no covalentes con el MAC que impiden que se inserte en la membrana externa de las células bacterianas. Estos ejemplos de bacterias gramnegativas resistentes son la excepción; la mayor parte de las bacterias gramnegativas son sensibles a la lisis mediada por complemento.

Las bacterias grampositivas son con frecuencia resistentes a la lisis mediada por complemento porque la capa gruesa de peptidoglucano en su pared celular impide la inserción del MAC

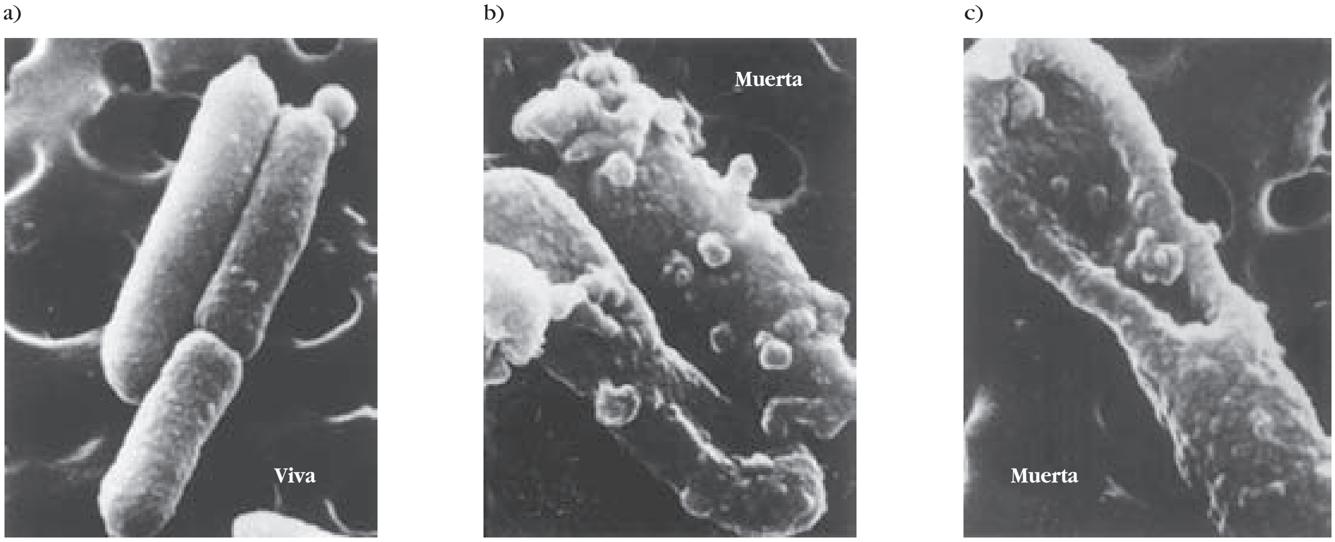


FIGURA 7-12 Micrografías electrónicas de barrido de *E. coli* que muestran células intactas (a) y células muertas por lisis mediada por complemento (b y c). Obsérvese la vesiculación de la membrana en las células lisadas. *[Tomada de R. D. Schreiber et al., 1979,* Journal of Experimental Medicine *149:870.]*

CUADRO 7-5 **Evasión microbiana del daño mediado por complemento**

Componente microbiano	Mecanismo de evasión	Ejemplos
	BACTERIAS GRAMNEGATIVAS	
Cadenas largas de polisacárido en LPS de la pared celular*	Las cadenas laterales impiden la inserción del MAC en la membrana bacteriana*	Cepas resistentes de *E. coli* y *Salmonella*
Proteína de membrana externa	El MAC interactúa con proteína de membrana y no puede insertarse en la membrana bacteriana	Cepas resistentes de *Neisseria gonorrhoeae*
Elastasa	La elastasa microbiana desactiva las anafilatoxinas C3a y C5a	*Pseudomonas aeruginosa*
	BACTERIAS GRAMPOSITIVAS	
Capa de peptidoglucano de la pared celular	La capa gruesa de peptidoglucano impide la inserción de MAC en la membrana bacteriana	*Streptococcus*
Cápsula bacteriana	La cápsula constituye una barrera física entre el C3b depositado en la membrana bacteriana y el CR1 en células fagocíticas*	*Streptococcus pneumoniae*
	OTROS MICROBIOS	
Proteínas que imitan proteínas reguladoras del complemento	Las proteínas que se encuentran en diversas bacterias, virus, hongos y protozoarios inhiben la cascada del complemento	Virus de la viruela bovina, herpes simple, virus de Epstein-Barr, *Trypanosoma cruzi*, *Candida albicans*

*LPS, lipopolisacáridos; MAC, complejo de ataque a membrana; CR1, receptor de complemento tipo 1.

en la membrana interna. Aunque puede ocurrir activación del complemento en la membrana celular de bacterias encapsuladas, como *Streptococcus pneumoniae*, la cápsula impide la interacción entre el C3b depositado en la membrana y el CR1 en células fagocíticas. Algunas bacterias poseen una elastasa que desactiva C3a y C5a e impide que estos productos de escisión induzcan una reacción inflamatoria. Además de estos mecanismos de evasión, varias bacterias, virus, hongos y protozoarios contienen proteínas que pueden interrumpir la cascada del complemento en sus superficies y así simular los efectos de las proteínas reguladoras del complemento normales C4bBP, CR1 y CD55 (DAF).

La lisis de células nucleadas requiere la formación de múltiples complejos de ataque a membrana, en tanto que un MAC aislado puede lisar un glóbulo rojo. Muchas células nucleadas, incluidas la mayor parte de las células cancerosas, pueden endocitar el MAC. Si el complejo se elimina lo bastante temprano, la célula puede reparar cualquier daño en la membrana y restablecer su estabilidad osmótica. Una consecuencia desafortunada de este efecto es que la lisis mediada por complemento causada por anticuerpos específicos para antígenos de célula tumoral, que ofrece una posible cura para el cáncer, puede tornarse ineficaz por endocitosis del MAC (cap. 21).

Los productos de escisión de componentes del complemento median la inflamación

Aunque las discusiones acerca de la cascada del complemento suelen centrarse en su papel en la lisis celular, en el proceso de activación del complemento se realizan funciones igualmente importantes. De importancia crítica son los diversos péptidos más pequeños que se generan durante la formación del MAC, los cuales tienen una función decisiva en el desarrollo de una reacción inflamatoria eficaz (cuadro 7-3). Los fragmentos más pequeños que resultan de la escisión del complemento, C3a, C4a y C5a, llamados **anafilatoxinas**, se unen a receptores en células cebadas y basófilos sanguíneos e inducen desgranulación, con liberación de histamina y otros mediadores con actividad farmacológica. Las anafilatoxinas inducen asimismo contracción de músculo liso y aumentan la permeabilidad vascular. Por lo tanto, la activación del sistema del complemento tiene como resultado el ingreso de líquido que lleva anticuerpo y células fagocíticas al sitio de entrada de antígeno. Las actividades de estas anafilatoxinas muy reactivas son reguladas por una proteasa sérica llamada carboxipeptidasa N, que escinde un residuo Arg del extremo C terminal de las moléculas y produce las llamadas formas *des-Arg*. La forma des-Arg de C3a es por completo

ENFOQUE CLÍNICO

Hemoglobinuria paroxística nocturna: un defecto de la regulación de la lisis por complemento

Entre los padecimientos comunes que se relacionan con deficiencias de los componentes del complemento se incluyen un incremento de la susceptibilidad a infecciones bacterianas y lupus eritematoso sistémico que se vincula con la incapacidad de depurar inmunocomplejos. La deficiencia de las proteínas que regulan la actividad del complemento también puede causar trastornos de consideración. Un ejemplo es la hemoglobinuria paroxística nocturna o PNH (del inglés *paroxysmal nocturnal hemoglobinuria*), que se manifiesta por aumento de la fragilidad de los eritrocitos, que conduce a anemia hemolítica crónica, pancitopenia (pérdida de glóbulos rojos de todos los tipos) y trombosis venosa (formación de coágulos sanguíneos). El nombre deriva de la presencia de hemoglobina en la orina, que se observa más a menudo en la primera orina que se elimina después del sueño por la noche. La causa de PNH es un defecto general de la síntesis de proteínas de superficie celular, que afecta la expresión de dos reguladores del complemento, DAF o CD55 y MIRL o CD59.

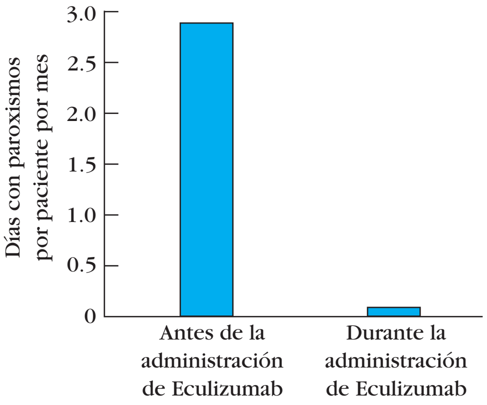
CD55 y CD59 son proteínas de superficie celular que funcionan como inhibidores de la lisis celular mediada por complemento, pero actúan en diferentes etapas del proceso. El CD55 anula la lisis celular al inducir la disociación y desactivación de las convertasas de C3 de las vías clásica, de lectina y alterna (fig. 7-10b). El CD59 actúa más tarde en la vía por unión al complejo C5b678, lo que inhibe la unión de C9 e impide la formación de los poros que destruyen la célula atacada. Ambas proteínas se expresan en eritrocitos así como en varios otros tipos de células hematopoyéticas. La deficiencia de estas proteínas causa un aumento considerable en la sensibilidad de las células del hospedador a los efectos líticos de la actividad del complemento del hospedador. La PNH, la consecuencia clínica de la deficiencia de CD55 y CD59, es una enfermedad crónica con tiempo medio de supervivencia de 10 a 15 años. Las causas más comunes de la mortalidad en la PNH son trombosis venosa, que afecta venas hepáticas, e insuficiencia progresiva de la médula ósea.

Una característica peculiar de este raro pero grave trastorno es el hecho de que en su patogenia intervienen dos proteínas diferentes. La ocurrencia simultánea de un defecto genético en ambas sería menor que la incidencia de 1 en 100 000 de la PNH. De hecho, ninguna de ellas es en sí defectuosa en la PNH; el defecto radica en una modificación postraduccional de las anclas de péptido que unen las proteínas a la membrana celular. Si bien la mayoría de las proteínas que se expresan en la superficie de las células tiene secuencias hidrófobas que atraviesan la bicapa lipídica de la membrana celular, algunas proteínas se unen por fijadores glucolipídicos (glucosil-fosfatidilinositol, o GPI) enlazados a aminoácidos en la proteína. Sin la capacidad de formar anclas de GPI no existen en la superficie celular las proteínas que se fijan de esta manera, como CD55 y CD59.

El defecto identificado en la PNH se encuentra temprano en la vía enzimática para la formación de fijador GPI y reside en el gen *pig-a* (gen de clase A de complementación de fosfatidilinositolglucano). La transfección de células de pacientes que sufren de PNH con un gen *pig-a* intacto restablece la resistencia de la célula a la lisis por complemento del hospedador. El examen de secuencias *pig-a* en personas con PNH revela varios defectos distintos en este gen ligado al sexo, que indican un origen somático del defecto más que genético. Dado que el defecto afecta numerosas células, el tratamiento del trastorno por terapia génica no es una opción práctica.

Se ha informado un avance reciente en el tratamiento de la PNH por medio de un anticuerpo monoclonal humanizado (cap. 4) que actúa en el componente C5 del complemento y de este modo inhibe los pasos finales de la cascada del complemento y la formación del complejo de ataque a membrana. Este anticuerpo, con el nombre patentado de Eculizumab, se infundió en algunos pacientes, en quienes luego se vigiló la pérdida de eritrocitos por lisis. Se observó una mejoría impresionante durante un período de tratamiento de 12 semanas con Eculizumab (véase la figura adjunta).

Las características de la PNH subrayan el hecho de que el sistema del complemento es un defensor potente del hospedador pero asimismo peligroso. Se requieren sistemas complejos de regulación para proteger las células del hospedador de los complejos del complemento activados creados para lisar intrusos.



El tratamiento con Eculizumab de pacientes con PNH alivia la hemoglobinuria. Se muestra el número de días con paroxismo (inicio del ataque) por paciente por mes en el mes previo al tratamiento (barra izquierda) y para un período de tratamiento de 12 semanas con el fármaco (barra derecha). *[De P. Hillmen et al., 1004.* New England Journal of Medicine ***350:****6, 552-59.]*

inactiva, en tanto que la de C5a conserva una parte de su actividad quimiotáctica y de su capacidad de causar contracción del músculo liso.

C3a y C5a pueden inducir monocitos y neutrófilos a que se adhieran a células endoteliales vasculares, se extravasen a través del recubrimiento endotelial de los capilares y migren hacia el sitio de activación del complemento en los tejidos. El C5a es más potente en la mediación de estos procesos y eficaz en cantidades picomolares. En el capítulo 14 se comenta con mayor amplitud la función del complemento en la quimiotaxis de leucocitos.

La unión de C3b y C4b facilita la opsonización

C3b es la principal opsonina del sistema del complemento, aunque C4b e iC3b también poseen actividad opsonizante. La amplificación observada con la activación de C3 causa un recubrimiento de C3b en inmunocomplejos y antígenos particulados. Las células fagocíticas, y asimismo algunas otras células, expresan receptores de complemento (CR1, CR3 y CR4) que unen C3b, C4b o iC3b (cuadro 7-4). El antígeno recubierto con C3b se une a células que portan CR1. Si la célula es un fagocito (p. ej., neutrófilo, monocito o macrófago) se intensifica la fagocitosis (fig. 7-13).

Se ha demostrado que la activación de células fagocíticas por diversos agentes, incluida la anafilatoxina C5a, aumenta el número de CR1 desde 5 000 en fagocitos en reposo hasta 50 000 en células activadas, lo que facilita en gran medida su fagocitosis de antígeno cubierto con C3b.

Estudios realizados recientemente señalan además que el fragmento del complemento C3b actúa como un coadyuvante cuando se une a los antígenos proteínicos. C3b dirige al antígeno de manera directa al fagocito, lo que fomenta el inicio del procesamiento de antígeno y acelera la producción de anticuerpo específico.

El sistema del complemento también neutraliza la infectividad vírica

En casi todos los virus, la unión de anticuerpo sérico a las subunidades de repetición de las proteínas estructurales víricas crea inmunocomplejos particulados ideales para activar el complemento por la vía clásica. Algunos virus (p. ej., retrovirus, virus de Epstein-Barr, virus de la enfermedad de Newcastle y virus de la rubéola) pueden activar las vías alterna, de lectina e incluso la clásica en ausencia de anticuerpo.

El sistema del complemento media la neutralización vírica por varios mecanismos. Se obtiene cierto grado de neutralización por la formación de agregados víricos más grandes, simplemente porque estos agregados reducen el número neto de partículas víricas infecciosas. Aunque el anticuerpo interviene en la formación de agregados víricos, estudios in vitro demuestran que el componente C3b facilita la formación del agregado cuando existen apenas dos moléculas de anticuerpo por virión. Por ejemplo, el virus del polioma recubierto con anticuerpo es neutralizado cuando se añade un suero que contiene C3 activado.

La unión de anticuerpo, complemento o ambos a la superficie de una partícula vírica crea un recubrimiento proteínico grueso que puede observarse mediante microscopia electrónica (fig. 7-14). Este recubrimiento neutraliza la infectividad vírica al bloquear la fijación a células hospedadoras susceptibles. Los depósitos de anticuerpo y complemento en partículas víricas también facilitan la unión de la partícula vírica a células que poseen Fc o receptores de complemento tipo 1 (CR1). En el caso de células fagocíticas, esta unión puede ir seguida de fagocitosis y destrucción intracelular de la partícula vírica ingerida. Por último, el complemento es eficaz para lisar la mayor parte o la totalidad de los virus envueltos y da lugar a la fragmentación de la envoltura y la desintegración de la nucleocápside.

Los virus han desarrollado diversas estrategias para evadir la actividad del sistema del complemento. Estas estrategias corresponden a tres categorías distintas:

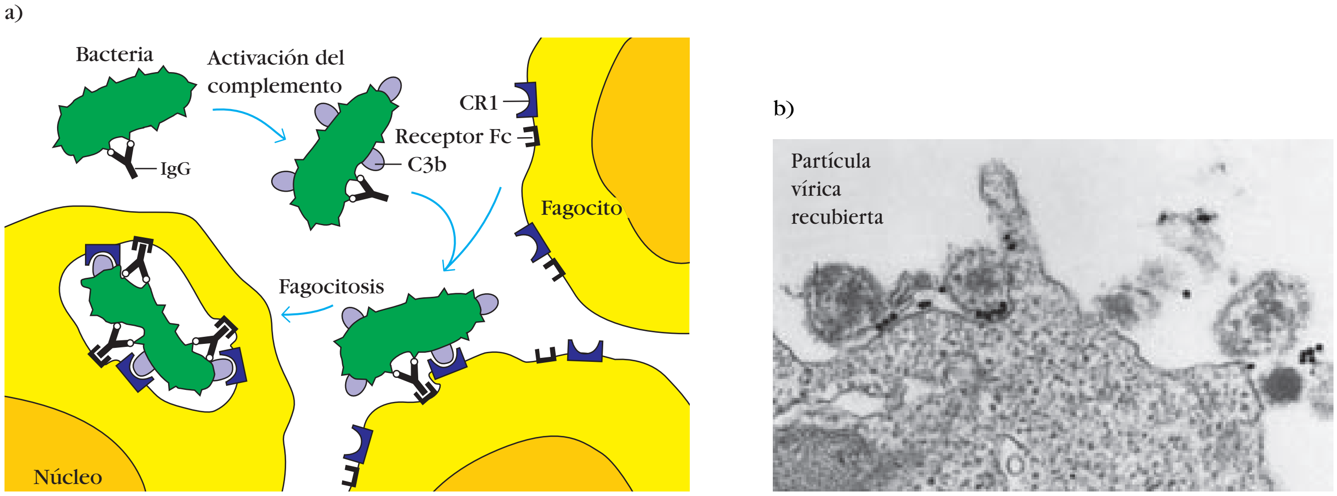


FIGURA 7-13 a) Representación esquemática de las acciones de C3b y anticuerpo en la opsonización. b) Micrografía electrónica del virus de Epstein-Barr recubierto con anticuerpo y C3b y unido a Fc y el receptor C3b (CR1) en un linfocito B. *[Parte b de N. R. Cooper y G. R. Nemerow, 1986, en* Immunobiology of the Complement System, *G. Ross, ed., Academic Press, Orlando.]*

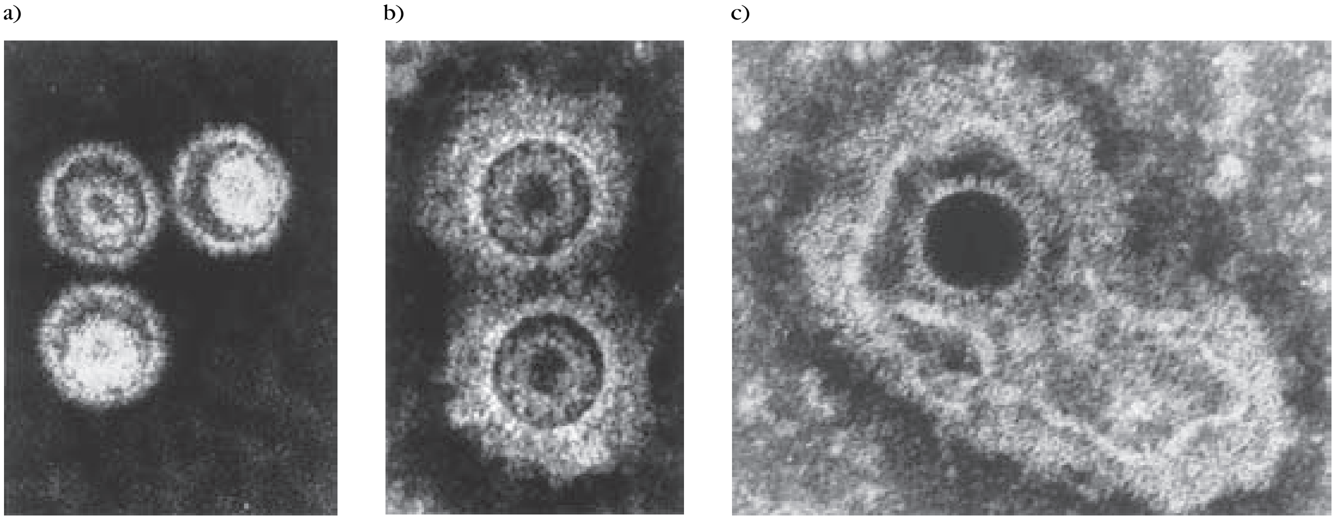


FIGURA 7-14 Micrografías electrónicas de preparados con tinción negativa de virus de Epstein-Barr. a) Testigos sin anticuerpo. b) Partículas cubiertas con anticuerpo. c) Partículas cubiertas con anticuerpo y complemento. *[De N. R. Cooper y G. R. Nemerow, 1986, en* Immunobiology of the Complement System, *G. Ross, ed., Academic Press, Orlando.]*

1. *Interferencia en la unión de complemento a complejos antígeno-anticuerpo.* Esta estrategia de evasión es utilizada por el virus del herpes, que sintetiza proteínas víricas con actividad de receptor de Fc; la unión de estas proteínas a inmunoglobulina inespecífica bloquea la unión de anticuerpos antivíricos.
2. *Mimetismo vírico de reguladores del complemento de los mamíferos.* El virus de la viruela bovina produce una proteína que une C4b y C3b, lo cual interfiere en su actividad, y actúa además como un cofactor para el factor inhibidor 1.
3. *Incorporación de reguladores del complemento celular en el virión.* El HTLV-1 (virus de la leucemia humana) incorpora concentraciones significativas de ácido siálico en su envoltura, lo cual lo enmascara con una propiedad de las células de los mamíferos.

El sistema del complemento depura inmunocomplejos de la circulación

La importancia del sistema del complemento en la eliminación de inmunocomplejos se observa en pacientes con la enfermedad autoinmunitaria lupus eritematoso sistémico (SLE, del inglés *systemic lupus erythematosus*). Estos individuos producen grandes cantidades de inmunocomplejos y sufren daño tisular como resultado de lisis mediada por complemento y la inducción de hipersensibilidad tipo II o III (cap. 15). Aunque el complemento tiene un papel relevante en el desarrollo del daño tisular en el SLE, el dato paradójico es que las deficiencias de C1, C2, C4 y CR1 predisponen a un sujeto al SLE; de hecho, 90% de las personas que carecen por completo de C4 desarrolla SLE. Se piensa que las deficiencias de complemento interfieren en la solubilización y eliminación eficaz de inmunocomplejos; como resultado, éstos persisten y conducen a daño tisular por el mismo sistema cuya deficiencia se culpó.

Se cree que el recubrimiento de inmunocomplejos solubles con C3b facilita su unión a CR1 en eritrocitos. Aunque los glóbulos rojos expresan concentraciones más bajas de CR1 (~5×10^2 por célula) que los granulocitos (~5×10^4 por célula), hay alrededor de 10^3 glóbulos rojos por cada leucocito; por consiguiente, los eritrocitos originan alrededor de 90% del CR1 en sangre. Por esta razón, los eritrocitos pueden tener un papel importante en la unión de inmunocomplejos cubiertos con C3b y el transporte de estos complejos a hígado y bazo. En estos órganos se eliminan los inmunocomplejos de los glóbulos rojos y se fagocitan, lo que por tanto evita su depósito en tejidos (fig. 7-15). En pacientes con SLE, las deficiencias de C1, C2 y C4 contribuyen cada una a valores reducidos de C3b en inmunocomplejos y por consiguiente inhiben su depuración. Los valores más bajos de CR1 que se expresan en los eritrocitos de pacientes con SLE pueden interferir asimismo en la unión y depuración apropiada de inmunocomplejos.

Deficiencias de complemento

Se han descrito deficiencias genéticas de cada uno de los componentes del complemento. Las deficiencias homocigotas de cualesquiera de los componentes tempranos de la vía clásica (C1q, C1r, C1s, C4 y C2) muestran síntomas similares, en especial un incremento notable de enfermedades por inmunocomplejos como lupus eritematoso sistémico, glomerulonefritis y vasculitis. Los efectos de estas deficiencias destacan la importancia de las reacciones tempranas del complemento en la generación de C3b y la función crítica de este último en la solubilización y depuración de inmunocomplejos. Además de las enfermedades por inmunocomplejos, los pacientes con estas deficiencias de complemento pueden sufrir infecciones recurrentes por bacterias piógenas (que forman pus), como estreptococos y estafilococos. Estos microorganismos son grampositivos y, por consiguiente, resisten los efectos líticos del complejo de ataque a membrana (MAC). No obstante, los componentes tempranos del complemento casi siempre impiden infecciones recurrentes

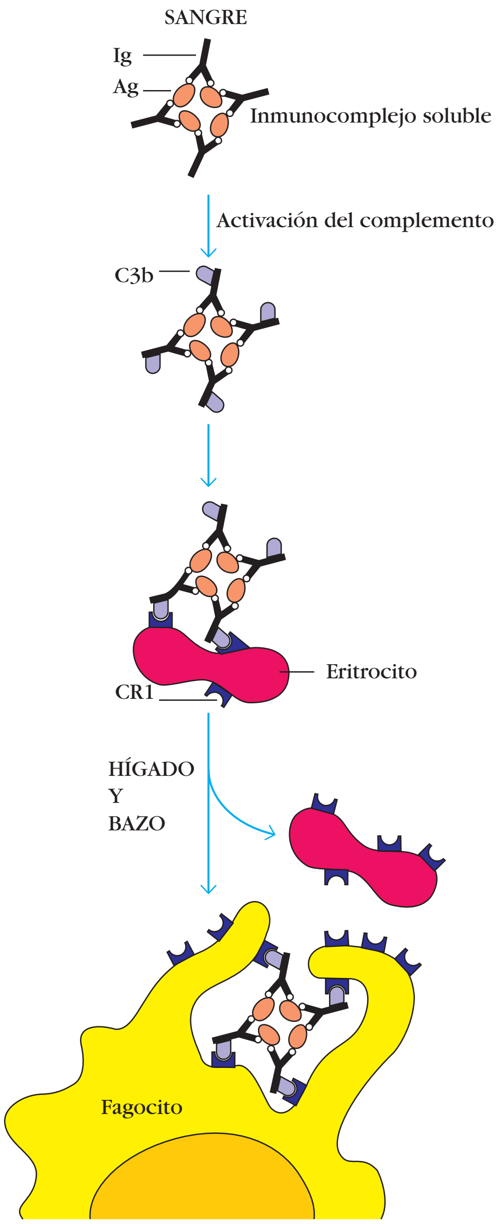


FIGURA 7-15 Depuración de inmunocomplejos circulantes por reacción con receptores para productos del complemento en eritrocitos y eliminación de estos complejos por receptores en macrófagos en hígado y bazo. Debido a que los eritrocitos tienen menos receptores que los macrófagos, estos últimos pueden eliminar los complejos de los eritrocitos a medida que pasan a través del hígado o el bazo. La deficiencia en este proceso puede conducir a daño renal debido a la acumulación de inmunocomplejos.

por mediación de una reacción inflamatoria localizada y opsonización de las bacterias. Las deficiencias de factor D y properdina —componentes tempranos de la vía alterna— se relacionan al parecer con infecciones por *Neisseria*, pero no con enfermedades por inmunocomplejos. Se ha demostrado que la deficiencia de MBL es relativamente común y da por resultado infecciones piógenas graves en neonatos y niños. Los niños con esta deficiencia son más propensos a las infecciones de vías respiratorias. Asimismo, tal deficiencia es dos o tres veces mayor en pacientes con SLE que en sujetos normales, y determinadas formas mutantes son prevalentes en portadores crónicos de hepatitis B.

Los sujetos con deficiencias de C3 tienen las manifestaciones clínicas más graves, lo cual refleja el papel central del C3 en la activación de C5 y la formación del MAC. El primer paciente que se identificó con una deficiencia de C3 fue un niño que padecía infecciones bacterianas graves frecuentes y tenía el diagnóstico inicial de agammaglobulinemia. Después de que las pruebas mostraron concentraciones normales de inmunoglobulinas, se descubrió una deficiencia de C3. Este caso destaca la función crítica del sistema del complemento en la conversión de una respuesta de anticuerpo humoral en un mecanismo de defensa eficaz. La mayoría de las personas con deficiencia de C3 sufre infecciones bacterianas recurrentes y puede presentar enfermedades por inmunocomplejos.

Las concentraciones de C4 varían considerablemente en la población, y es posible que las personas con valores más bajos presenten mayor incidencia de enfermedad autoinmunitaria. Los genes que codifican C4 se encuentran en el locus de histocompatibilidad mayor (cap. 8), y el número de genes C4 varía de dos a siete copias en un individuo. Estudios recientes vinculan las concentraciones más bajas determinadas genéticamente con un mayor riesgo de lupus eritematoso sistémico.

Los sujetos con deficiencias homocigotas de los componentes que participan en el desarrollo de MAC padecen infecciones meningocócicas y gonocócicas recurrentes por especies de *Neisseria*. En personas normales estas bacterias gramnegativas suelen ser sensibles a lisis mediada por complemento o se eliminan por la actividad opsonizante de C3b. Los individuos con deficiencia de MAC rara vez tienen enfermedades por inmunocomplejos, lo cual sugiere que producen suficiente C3b para depurar inmunocomplejos. Como hecho interesante, una deficiencia de C9 no induce síntomas clínicos, lo que indica que no siempre se requiere MAC completo para la lisis mediada por complemento.

Se han informado asimismo deficiencias congénitas de proteínas reguladoras del complemento. El inhibidor C1 (C1Inh) regula la activación de la vía clásica y previene la activación excesiva de C4 y C2 por C1. La deficiencia de C1Inh es un padecimiento autosómico dominante, con frecuencia de 1 en 1 000. La deficiencia origina un padecimiento llamado angioedema hereditario, que se manifiesta en clínica por edema localizado de los tejidos, con frecuencia consecutivo a traumatismos, pero en ocasiones sin causa conocida. El edema puede identificarse en tejido subcutáneo o dentro del intestino, en donde causa dolor abdominal, o en vías respiratorias superiores, en las que provoca obstrucción potencialmente letal.

Estudios en seres humanos y animales de experimentación con deficiencias homocigotas de componentes del complemento son la principal fuente de información sobre el papel de los componentes del complemento individuales en la inmunidad. Estas observaciones han sido ampliadas en gran medida por estudios en ratones con desactivaciones génicas sometidos a ingeniería genética para suprimir la expresión de componentes del complemento específicos. Las investigaciones sobre la actividad del complemento in vivo en estos animales han permitido analizar el complejo sistema de proteínas del complemento y asignar acciones biológicas precisas a cada uno.

RESUMEN

- El sistema del complemento comprende un grupo de proteínas séricas, muchas de las cuales existen en formas inactivas.
- La activación del complemento ocurre por las vías clásica, alterna o de lectina, cada una de las cuales se inicia de manera diferente.
- Las tres vías convergen en una secuencia clásica de fenómenos que conducen a la generación de un complejo molecular que causa lisis celular.
- La vía clásica se inicia por la unión de anticuerpo a una célula blanco; las reacciones de IgM y ciertas subclases de IgG activan esta vía.
- La activación de las vías alterna y de lectina es independiente de anticuerpo. Estas vías se inician por la reacción de proteínas del complemento con moléculas superficiales de los microorganismos.
- Además de su papel fundamental en la lisis celular, el sistema del complemento media la opsonización de bacterias, la activación de la inflamación y la depuración de inmunocomplejos.
- Las interacciones de proteínas del complemento y fragmentos proteínicos con receptores en las células del sistema inmunitario controlan las reacciones inmunitarias innata y adquirida.
- Debido a su capacidad de dañar al organismo hospedador, el sistema del complemento requiere mecanismos reguladores pasivos y activos complejos.
- Las consecuencias clínicas de las deficiencias hereditarias del complemento van desde mayor susceptibilidad a infecciones hasta daño de tejidos causado por inmunocomplejos.

Bibliografía

Carroll, M. C. 2004. The complement system in regulation of adaptive immunity. *Nature Immunology* **5:**981.

Davis, A. E., III. 2005. The pathophysiology of hereditary angioedema. *Clinical Immunology* **114:**3.

Favoreel, H. W., et al. 2003. Virus complement evasion strategies. *Journal of General Virology* **84:**1.

Hillmen, P., et al. 2004. Effect of Eculizumab on hemolysis and transfusion requirements in patients with paroxysmal nocturnal hemoglobinuria. *New England Journal of Medicine* **350:**552.

Holmskov, U., S. Thiel, and J. C. Jensenius. 2003. Collectins and ficolins: Humoral lectins of the innate immune defense. *Annual Review of Immunology* **21:**547.

Kishore, U., et al. 2004. C1q and tumor necrosis factor superfamily: Modularity and versatility. *Trends in Immunology* **25:**551.

Lindahl, G., U. Sjobring, and E. Johnsson. 2000. Human complement regulators: A major target for pathogenic microorganisms. *Current Opinion in Immunology* **12:**44.

Manderson, A. P., M. Botto, and M. J. Walport. 2004. The role of complement in the development of systemic lupus erythematosus. *Annual Review of Immunology* **22:**431.

Matsumoto, M., et al. 1997. Abrogation of the alternative complement pathway by targeted deletion of murine factor B. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.* **94:**8720

Muller-Eberhard, H. J. 1988. Molecular organization and function of the complement system. *Annual Review of Biochemistry* **57:**321.

Nonaka, M., and F. Yohizaki. 2004. Primitive complement system of invertebrates. *Immunological Reviews* **198:**203.

Rautemaa, R., and S. Meri. 1999. Complement-resistance mechanisms of bacteria. *Microbes and Infection/Institut Pasteur* **1:**785.

Sloand, E. M., et al. 1998. Correction of the PNH defect by GPI-anchored protein transfer. *Blood* **92:**4439.

Turner, M. W. 2003. The role of mannose-binding lectin in health and disease. *Molecular Immunology* **40:**423.

Wen, L., J. P. Atkinson, and P. C. Gicias. 2004. Clinical and laboratory evaluation of complement deficiency. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* **113:**585.

Yu, C. Y., and C. C. Whitacre. 2004. Sex, MHC and complement C4 in autoimmune diseases. *Trends in Immunology* **25:**694

Zarkadis, I. K., D. Mastellos, and J. D. Lambris. 2001. Phylogenetic aspects of the complement system. *Developmental and Comparative Immunology* **25:**745.

Sitios útiles de la red

http://www.complement-genetics.uni-mainz.de/

La Complement Genetics Homepage de la Universidad de Mainz proporciona localizaciones cromosómicas e información sobre deficiencias genéticas de proteínas del complemento.

http://www.cehs.siu.edu/fix/medmicro/cfix.htm

Una representación gráfica ingeniosa de la valoración básica para la actividad del complemento en la que se utiliza la lisis de glóbulos rojos; su autor es D. Fix, de la University of Southern Illinois, Carbondale.

Preguntas de estudio

Pregunta de enfoque clínico Explique por qué las alteraciones del complemento que afectan componentes reguladores (como la hemoglobinuria paroxística nocturna o PNH) suelen ser más graves que las deficiencias de componentes activos del complemento.

1. Indique si cada una de las afirmaciones siguientes es verdadera o falsa. Si piensa que una afirmación es falsa, explique por qué.
    a. Una molécula individual de IgM unida puede activar el componente C1q de la vía del complemento clásica.
    b. C3a y C3b son fragmentos de C3.
    c. Los componentes del complemento C4 y C2 se encuentran en el suero en la forma de proenzimas sin actividad funcional.
    d. Las células nucleadas tienden a ser más resistentes a la lisis mediada por complemento que los glóbulos rojos.
    e. Los virus envueltos no pueden ser lisados por complemento porque su envoltura externa es resistente a la formación de poro por el complejo de ataque a membrana.
    f. Los individuos con deficiencia de C4 tienen dificultades para eliminar inmunocomplejos.
2. Explique por qué la IgM sérica no puede por sí misma activar el complemento.

3. Se han descrito pacientes con deficiencias genéticas de todos los componentes del complemento excepto el factor B. Las consecuencias de la deficiencia de C3 son especialmente graves. Describa las implicaciones de la ausencia de C3 en cada uno de los siguientes casos:

    a. Activación de las vías clásica y alterna
    b. Depuración de inmunocomplejos
    c. Fagocitosis de bacterias infecciosas
    d. Presentación de péptidos antigénicos de bacterias infecciosas

4. Resuma las cuatro funciones principales del sistema del complemento.

5. La activación del complemento puede ocurrir por las vías clásica, alterna o de lectina.

    a. ¿Cómo difieren las tres vías en las sustancias que pueden iniciar la activación?
    b. ¿Qué porción de la secuencia total de activación difiere en las tres vías? ¿Qué porción es similar?
    c. ¿En qué difieren las consecuencias biológicas de la activación del complemento por estas vías?

6. Las células sin núcleo, como los glóbulos rojos, son más susceptibles a la lisis mediada por complemento que las células nucleadas.

    a. Explique por qué los glóbulos rojos de una persona no se destruyen en condiciones normales como resultado de lisis de espectadores inocentes por complemento.
    b. ¿En qué condiciones podría causar el complemento lisis de los glóbulos rojos propios de una persona?

7. Explique de forma sucinta el mecanismo de acción de las siguientes proteínas reguladoras del complemento. Indique qué vía(s) regula cada proteína.

    a. Inhibidor de C1 (C1Inh)
    b. Proteína de unión de C4b (C4bBP)
    c. Factor de restricción homólogo (HRF)
    d. Factor acelerador de la degradación (DAF)
    e. Factor H
    f. Proteína cofactor de membrana (MCP)

8. Para cada componente(s) o reacción (a-l) del complemento, elija la descripción más apropiada (1-13). Cada descripción puede utilizarse una vez, más de una vez o ninguna vez.

Componente(s)/reacciones del complemento

a. ______C3b
b. ______C1, C4, C2 y C3
c. ______C9
d. ______C3, factor B y factor D
e. ______C1q
f. ______C4b2a3b
g. ______C5b, C6, C7, C8 y C9
h. ______C3 → C3a + C3b
i. ______C3a, C5a y C5b67
j. ______C3a, C4a y C5a
k. ______C4b2a
l. ______C3b + B → C3bBb + Ba

Descripciones

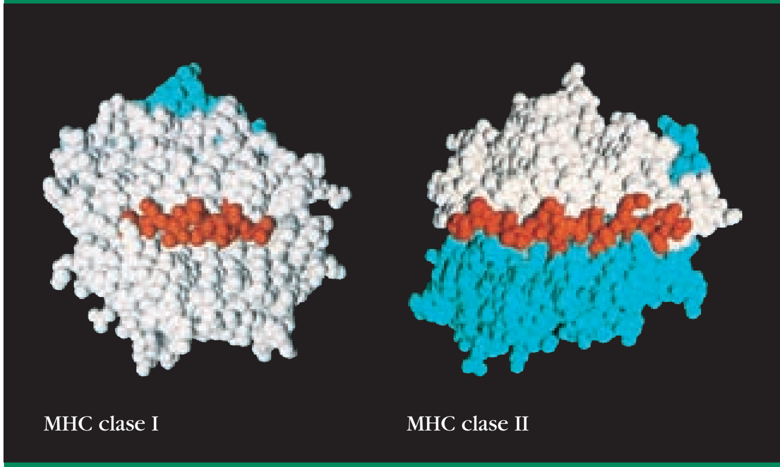
1) Reacción que produce una amplificación mayor durante la activación
2) Son componentes tempranos de la vía alterna
3) Constituyen el complejo de ataque a membrana
4) Media la opsonización
5) Son componentes tempranos de la vía clásica
6) Tiene actividad parecida a perforina
7) Se une a anticuerpos de la región Fc
8) Tienen actividad quimiotáctica
9) Tiene actividad de convertasa de C3
10) Inducen la desgranulación de células cebadas (son anafilatoxinas)
11) Tiene actividad de convertasa de C5
12) Reacción catalizada por factor D
13) Reacción catalizada por C1qr$_2$s$_2$

9. El lector ha creado ratones con desactivación génica que presentan mutaciones en los genes que codifican diversos componentes del complemento. Cada cepa alterada es incapaz de expresar uno de los componentes del complemento indicado en la parte superior del cuadro adjunto. Anticipe el efecto de cada mutación en los pasos de la activación del complemento y en las funciones efectoras del complemento indicadas en el cuadro mediante los símbolos siguientes: NE = sin efecto; D = proceso/función disminuido(a) pero no suprimido(a); A = proceso/función suprimido(a).

	Componentes desactivados						
	C1q	**C4**	**C3**	**C5**	**C6**	**C9**	**Factor B**
ACTIVACIÓN DEL COMPLEMENTO							
Formación de convertasa de C3 en la vía clásica							
Formación de convertasa de C3 en la vía alterna							
Formación de convertasa de C5 en la vía clásica							
Formación de convertasa de C5 en la vía alterna							
FUNCIONES EFECTORAS							
Opsonización mediada por C3b							
Quimiotaxis de neutrófilos							
Lisis celular							

capítulo 8

Complejo mayor de histocompatibilidad y presentación de antígeno



Modelos de espacio lleno de las moléculas MHC clases I y II, con los péptidos unidos en rojo. [De D. A. Vignali y J. Strominger, 1994, The Immunologist *2:112.]*

- Organización general y herencia del MHC
- Moléculas y genes del MHC
- Mapa genómico detallado de los genes del MHC
- Expresión celular de moléculas MHC
- Regulación de la expresión del MHC
- MHC y susceptibilidad a enfermedades
- MHC e inmunorreactividad
- Restricción de células T a MHC propio
- Función de las células presentadoras de antígeno
- Pruebas de la existencia de distintas vías de procesamiento y presentación de antígeno
- Antígenos endógenos: vía citosólica
- Antígenos exógenos: vía endocítica
- Presentación cruzada de antígenos exógenos
- Presentación de antígenos no peptídicos

En contraste con lo que ocurre en el caso de los anticuerpos o receptores de célula B, que pueden reconocer antígeno libre, los receptores de célula T sólo reconocen antígeno que ha sido procesado y presentado en el contexto de moléculas codificadas por el **complejo mayor de histocompatibilidad** (**MHC**, del inglés *major histocompatibility complex*). El MHC fue estudiado inicialmente y llamado así como un complejo genético que influye en la capacidad de un organismo de aceptar o rechazar tejido trasplantado de otro miembro de la misma especie. Los estudios pioneros de R. Zinkernagel y P. Doherty, B. Benacerraf y otros dejaron en claro que las moléculas codificadas por el MHC tienen un papel fundamental en la determinación de las inmunorreacciones adaptativas, y el conjunto específico de moléculas MHC expresadas por un individuo influye en el repertorio de antígenos a los cuales las células T_H y T_C de ese individuo pueden reaccionar. El MHC influye en la reacción de un individuo a antígenos de microorganismos infecciosos, y por tanto se le ha implicado en la susceptibilidad a enfermedades así como en el desarrollo de autoinmunidad. El conocimiento reciente de que las células asesinas naturales expresan receptores para antígenos del MHC clase I y el hecho de que la interacción entre el receptor y el MHC puede dar lugar a la inhibición o activación amplían las funciones conocidas de esta familia de genes (cap. 14). Los mecanismos por los cuales esta familia de moléculas influye en el desarrollo de inmunidad contra casi cualquier tipo de antígeno se han convertido en un tema central de la inmunología, y llevan el estudio del MHC mucho más allá de la biología de los trasplantes.

En este capítulo se explora brevemente la historia del MHC y se describen los genes y las moléculas codificadas en él. Se mencionará la relación de determinados genes del MHC con la susceptibilidad a enfermedades, y también la diversidad de estos genes en la población humana. Se hace énfasis en el modo en que los productos del MHC generan el complejo péptido-MHC derivado de antígenos proteínicos (**procesamiento de antígeno**) y en el modo en que este complejo molecular es transportado a la membrana de la célula, donde el antígeno es exhibido para su reconocimiento por células T (**presentación de antígeno**). Además, se describirá la función de determinadas moléculas no codificadas dentro del MHC en la presentación de ciertas clases de antígeno.

Organización general y herencia del MHC

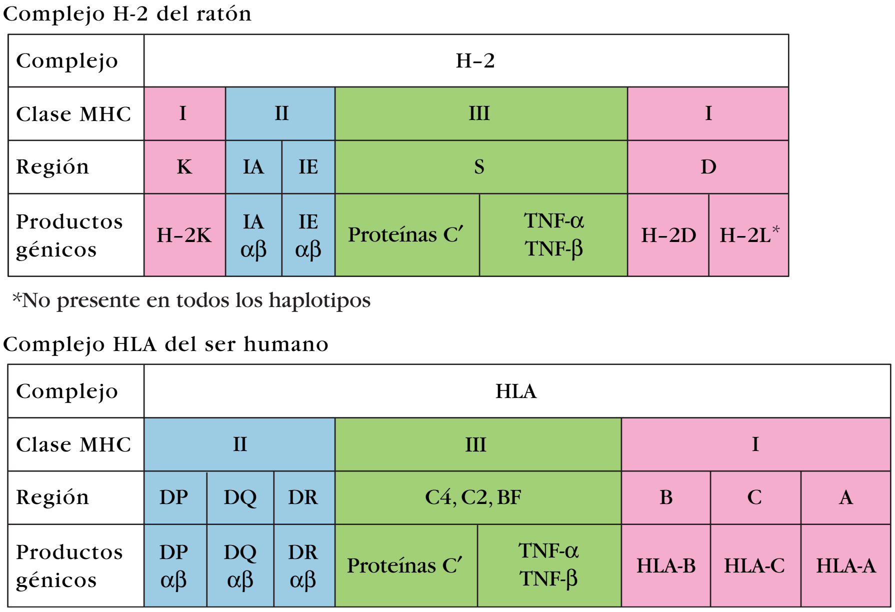
Cada especie de mamífero estudiada a la fecha posee el grupo de genes unidos de manera estrecha que constituyen el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC), cuyos productos desempeñan funciones importantes en el reconocimiento intercelular y la diferenciación entre lo propio y lo extraño. El MHC participa en el desarrollo tanto de las inmunorreacciones humorales como de las mediadas por células. Los estudios sobre este grupo génico se originaron cuando se descubrió que el rechazo de tejido ajeno es el resultado de una reacción inmunitaria a moléculas de la superficie celular, ahora llamadas **antígenos de histocompatibilidad**. A mediados del decenio de 1930, Peter Gorer, que utilizaba cepas endogámicas de ratones para identificar antígenos de grupo sanguíneo, identificó cuatro grupos de genes, designados I a IV, que codificaban antígenos de células sanguíneas. El trabajo que Gorer y George Snell llevaron a cabo en los decenios de 1940 y 1950 estableció que los antígenos codificados por los genes en el grupo designado II participaban en el rechazo de tumores y otros tejidos trasplantados. Snell denominó a estos genes "genes de histocompatibilidad"; su designación actual como genes de histocompatibilidad 2 (H-2) hace referencia a los antígenos de grupo sanguíneo del grupo II de Gorer. Aunque Gorer murió antes de que sus contribuciones se reconocieran plenamente, Snell recibió el premio Nobel en 1980 por este trabajo.

El MHC codifica tres clases de moléculas principales

El complejo mayor de histocompatibilidad es un conjunto de genes dispuestos dentro de una tira continua larga de DNA en el cromosoma 6 en seres humanos y en el cromosoma 17 en ratones. El MHC se denomina **complejo HLA** en el ser humano y **complejo H-2** en ratones. Aunque la disposición de los genes es un poco distinta en las dos especies, en ambos casos los genes del MHC (o genes MHC) se organizan en regiones que codifican tres clases de moléculas (fig. 8-1):

- **Genes MHC clase I:** codifican glucoproteínas que se expresan en la superficie de casi todas las células nucleadas; la principal función de los productos génicos clase I es la presentación de antígenos péptidos a células T_C.
- **Genes MHC clase II:** codifican glucoproteínas que se expresan sobre todo en células presentadoras de antígeno (macrófagos, células dendríticas y células B), donde presentan péptidos antigénicos procesados a células T_H.

FIGURA 8-1 PARA VISUALIZACIÓN DE CONCEPTOS: Organización simplificada del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) en el ratón y el ser humano



Complejo H-2 del ratón

Complejo	H-2						
Clase MHC	I	II		III		I	
Región	K	IA	IE	S		D	
Productos génicos	H-2K	IA αβ	IE αβ	Proteínas C′	TNF-α TNF-β	H-2D	H-2L*

*No presente en todos los haplotipos

Complejo HLA del ser humano

Complejo	HLA							
Clase MHC	II			III		I		
Región	DP	DQ	DR	C4, C2, BF		B	C	A
Productos génicos	DP αβ	DQ αβ	DR αβ	Proteínas C′	TNF-α TNF-β	HLA-B	HLA-C	HLA-A

El MHC se denomina complejo H-2 en ratones y complejo HLA en el ser humano. En ambas especies el MHC está organizado en varias regiones que codifican productos génicos clase I (rosa), clase II (azul) y clase III (verde). Se considera que los productos génicos clase I y clase II que se muestran en esta figura son las moléculas MHC clásicas. Los productos génicos clase III incluyen proteínas del complemento (C′) y factores de necrosis tumoral (TNF-α y TNF-β).

- **Genes MHC clase III:** codifican, además de otros productos, varias proteínas secretadas que desempeñan funciones inmunitarias, inclusive componentes del sistema de complemento y moléculas relacionadas con la inflamación.

Las moléculas MHC clase I codificadas por las regiones K y D en ratones y los loci A, B y C en seres humanos fueron las primeras que se descubrieron, y se expresan en la gama más amplia de tipos celulares. Se denominan *moléculas clase I clásicas.* Genes o grupos adicionales de genes dentro de los complejos H-2 o HLA también codifican moléculas clase I; estos genes se designan *genes clase I no clásicos.* La expresión de los productos génicos no clásicos se limita a ciertos tipos específicos de células. Aunque las funciones de todos estos productos génicos se desconocen, algunas pueden ser muy especializadas en la inmunidad. Por ejemplo, la expresión de las moléculas HLA-G clase I en citotrofoblastos en la interfaz fetomaterna se relaciona con la protección del feto a fin de evitar que sea reconocido como extraño (esto puede ocurrir cuando los antígenos paternos comienzan a aparecer) y sea rechazado por las células T_C maternas.

Las regiones IA e IE en ratones, y las regiones DP, DQ, y DR en el ser humano, codifican las dos cadenas de las moléculas MHC clase II. La terminología es un poco confusa, ya que la región D en ratones codifica moléculas MHC clase I, en tanto que la región D (DR, DQ, DP) en el ser humano se refiere a genes que codifican moléculas MHC clase II. Igual que con los loci clase I, las moléculas clase II adicionales codificadas dentro de esta región desempeñan funciones especializadas en el proceso inmunitario.

Las moléculas MHC clase I y clase II comparten características estructurales, y ambas participan en el procesamiento y la presentación de antígeno. En contraste, la región MHC clase III, a cuyos lados se encuentran las regiones clase I y clase II, codifica moléculas que son críticas para la función inmunitaria pero tienen poco en común con las moléculas clase I o II. Los productos clase III comprenden los componentes del complemento C4, C2 y factor B (codificado por el gen *BF*; véase el cap. 7) y varias citocinas inflamatorias, incluido el factor de necrosis tumoral (TNF).

Las formas alélicas de los genes MHC se heredan en grupos unidos llamados haplotipos

Como se describe con mayor detalle más adelante, los loci que constituyen el MHC son altamente **polimórficos**; es decir, en la población existen muchas formas alternativas del gen, o **alelos**, en cada locus. Los genes de los loci de MHC se encuentran muy cerca entre sí; por ejemplo, la frecuencia de recombinación dentro del complejo H-2 (es decir, la frecuencia de fenómenos de entrecruzamiento cromosómico durante la mitosis, que indica la distancia entre segmentos génicos determinados) es de apenas 0.5%: sólo ocurre entrecruzamiento una vez cada 200 ciclos mitóticos. Por esta razón, casi todas las personas heredan los alelos codificados por estos loci muy cercanos como dos grupos, uno de cada padre. Cada grupo de alelos se denomina **haplotipo**. Un individuo hereda un haplotipo de la madre y un haplotipo del padre. En poblaciones exogámicas, la descendencia suele ser heterocigota en muchos loci y expresará tanto el alelo MHC materno como el paterno. Los alelos *se expresan de manera codominante*; es decir, en la misma célula se expresan productos génicos maternos y paternos. Si se aparean ratones endogámicos (o sea, que tienen alelos idénticos en todos los loci), cada locus H-2 será homocigoto porque los haplotipos materno y paterno son idénticos, y por tanto toda la descendencia expresa haplotipos idénticos.

Ciertas cepas de ratones endogámicos (cepas endogámicas) se designan cepas prototipo, y el haplotipo MHC expresado por estas cepas se designa mediante un superíndice itálico arbitrario (p. ej., H-2^a, H-2^b). Estas designaciones se refieren al grupo total de alelos H-2 heredados dentro de una cepa sin tener que enumerar cada alelo de manera individual (cuadro 8-1). Diferentes cepas endogámicas pueden tener el mismo

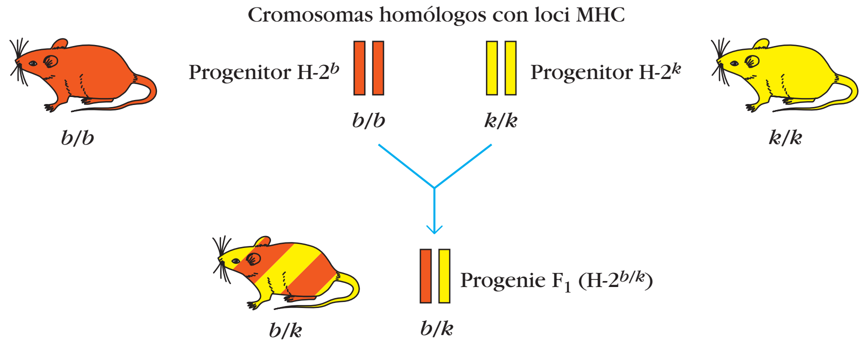
CUADRO 8-1 Haplotipos H-2 de algunas cepas de ratón

			ALELOS H-2				
Cepa prototipo	**Otras cepas con el mismo haplotipo**	**Haplotipo**	***K***	***IA***	***IE***	***S***	***D***
CBA	AKR, C3H, B10.BR, C57BR	*k*	*k*	*k*	*k*	*k*	*k*
DBA/2	BALB/c, NZB, SEA, YBR	*d*	*d*	*d*	*d*	*d*	*d*
C57BL/10 (B10)	C57BL/6, C57L, C3H.SW, LP, 129	*b*	*b*	*b*	*b*	*b*	*b*
A	A/He, A/Sn, A/Wy, B10.A	*a*	*k*	*k*	*k*	*d*	*d*
B10.1A (2R)*		*b2*	*k*	*k*	*k*	*d*	*b*
B10.A (3R)		*i3*	*b*	*b*	*k*	*d*	*d*
B10A. (4R)		*b4*	*k*	*k*	*b*	*b*	*b*
A.SW	B10.S, SJL	*s*	*s*	*s*	*s*	*s*	*s*
A.TL		*t1*	*s*	*k*	*k*	*k*	*d*
DBA/1	STOLI, B10.Q, BDP	*q*	*q*	*q*	*q*	*q*	*q*

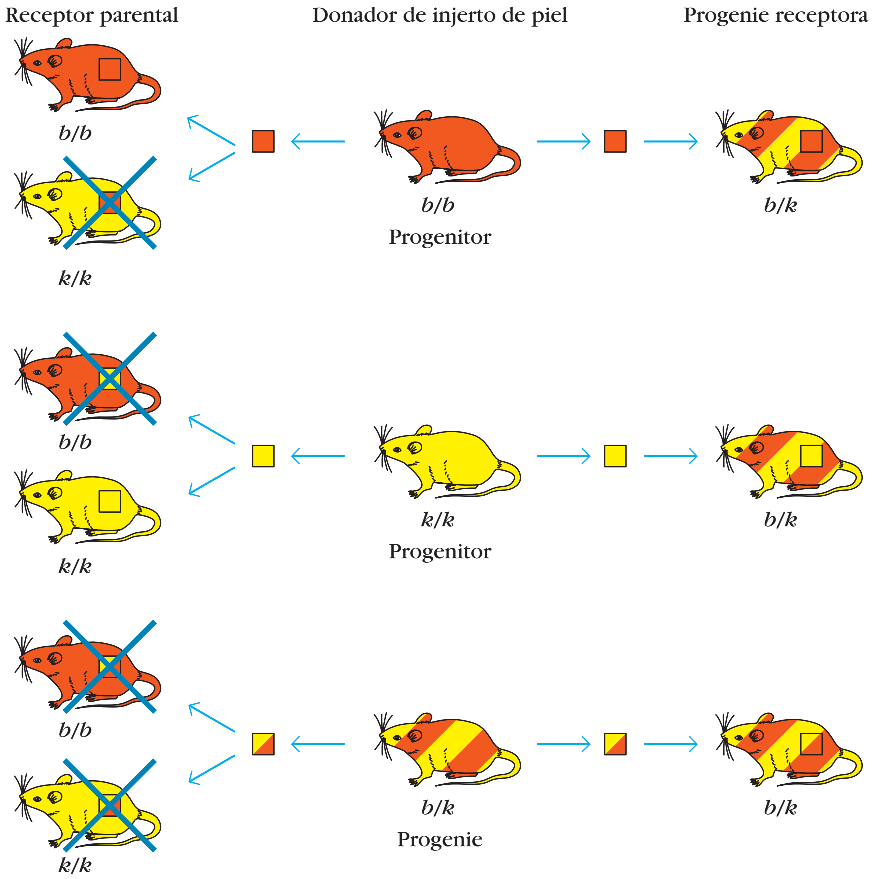
*La letra R designa un haplotipo recombinante, en este caso entre los tipos H-2^a y H-2^b. La contribución génica de la cepa ***a*** se muestra en amarillo, y la de la cepa ***b*** en rojo.

FIGURA 8-2 a) Ilustración de la herencia de haplotipos de MHC en cepas de ratón endogámico. Las letras *b/b* designan un ratón homocigoto para el haplotipo de MHC H-2^{b}, *k/k* homocigoto para el haplotipo H-2^{k} y *b/k* heterocigoto. Puesto que los loci de MHC están enlazados de manera estrecha y se heredan como un grupo, el haplotipo MHC de la progenie F1 del apareamiento de dos cepas endogámicas diferentes puede predecirse con facilidad. b) El tipo de MHC del ratón endogámico controla la aceptación o el rechazo de injertos de piel. La progenie del cruzamiento entre dos cepas endogámicas con haplotipos MHC distintos (H-2^{b} y H-2^{k}) expresará ambos haplotipos (H-2$^{b/k}$) y aceptará injertos entre sí y de cualquiera de los progenitores. Ninguna cepa parental aceptará injertos de la descendencia. c) Herencia de haplotipos de HLA en una familia humana hipotética. En el ser humano, los haplotipos de HLA paternos se designan arbitrariamente A y B, los maternos C y D. Obsérvese que de la recombinación de haplotipos maternos surge un nuevo haplotipo, R (recombinación). Como el ser humano es una especie exogámica y existen muchos alelos en cada locus de HLA, es necesario determinar los alelos que comprenden los haplotipos mediante la tipificación de los padres y la progenie. d) Se muestran los genes que caracterizan cada haplotipo de los padres en la familia hipotética de (c) junto con un nuevo haplotipo que surgió por la recombinación (R) de haplotipos maternos.

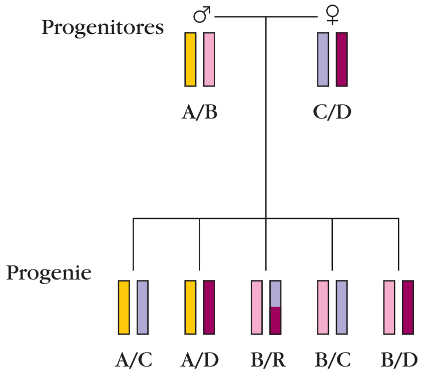
a) Apareamiento de cepas murinas endogámicas con diferentes haplotipos MHC


Cromosomas homólogos con loci MHC
Progenitor H-2^{b}
Progenitor H-2^{k}
b/b
b/b
k/k
k/k
Progenie F$_1$ (H-2$^{b/k}$)
b/k
b/k

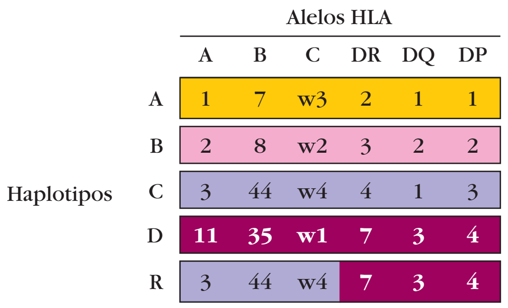
b) Trasplante de piel entre cepas murinas endogámicas con haplotipos MHC iguales o diferentes


Receptor parental
Donador de injerto de piel
Progenie receptora
b/b
k/k
b/b
Progenitor
b/k
b/b
k/k
k/k
Progenitor
b/k
b/b
k/k
b/k
Progenie
b/k

c) Herencia de haplotipos HLA en una familia humana típica


Progenitores
♂
♀
A/B
C/D
Progenie
A/C
A/D
B/R
B/C
B/D

d) Un nuevo haplotipo (R) surge de la recombinación de haplotipos maternos


Alelos HLA
Haplotipos

Haplotipos	A	B	C	DR	DQ	DP
A	1	7	w3	2	1	1
B	2	8	w2	3	2	2
C	3	44	w4	4	1	3
D	11	35	w1	7	3	4
R	3	44	w4	7	3	4

grupo de alelos, es decir, el mismo haplotipo MHC, que la cepa prototipo. Por ejemplo, las cepas CBA, AKR y C3H poseen el mismo haplotipo MHC (H-2^k). Sin embargo, las tres cepas difieren en genes que no pertenecen al complejo H-2.

Si dos ratones de cepas endogámicas con diferentes haplotipos MHC se aparean, la generación F_1 hereda haplotipos de ambas cepas parentales y por tanto expresa ambos alelos parentales en cada locus de MHC. Por ejemplo, si una cepa H-2^b se cruza con una H-2^k, entonces la F_1 hereda los dos grupos parentales de alelos y se dice que es H-$2^{b/k}$ (fig. 8-2a). Puesto que esta F_1 expresa las proteínas MHC de ambas cepas parentales en sus células, es histocompatible con ambas cepas y capaz de aceptar injertos de cualesquiera de las cepas parentales (fig. 8-2b). Sin embargo, ninguna de las cepas parentales endogámicas puede aceptar un injerto de los ratones F_1 porque la mitad de las moléculas MHC son extrañas para cada progenitor.

La figura 8-2c ilustra la herencia de haplotipos HLA de padres humanos heterocigotos. En una población exogámica, cada individuo suele ser heterocigoto en cada locus. El complejo HLA humano es muy polimórfico, y existen múltiples alelos de cada gen de clase I y clase II. Sin embargo, como en el caso de los ratones, los loci de MHC humanos están unidos en forma estrecha y suelen heredarse como un haplotipo. Cuando el padre y la madre tienen haplotipos distintos, como en el ejemplo que se muestra (fig. 8-2c), hay una posibilidad en cuatro de que la descendencia herede los mismos haplotipos paternos y maternos y en consecuencia sea histocompatible entre sí; ningún miembro de la descendencia será histocompatible con los padres.

Aunque el índice de recombinación por entrecruzamiento es bajo dentro del HLA, aún contribuye de manera significativa a la diversidad de los loci en poblaciones humanas. La recombinación genética genera nuevas combinaciones alélicas (fig. 8-2d), y el gran número de generaciones intermedias desde la aparición del ser humano como especie ha permitido una recombinación extensa. Como resultado de esta recombinación y de otros mecanismos para la generación de mutaciones, es excepcional que cualesquiera dos personas no emparentadas tengan grupos idénticos de genes HLA.

Las cepas endogámicas de ratón han sido de utilidad en el estudio del MHC

El análisis detallado del complejo H-2 en ratones hizo posible el desarrollo de cepas murinas congénicas. Las cepas endogámicas de ratones son **singénicas** o idénticas en todos los loci genéticos. Dos cepas son **congénicas** si son genéticamente idénticas excepto en un locus o región genética aislados. Cualquier diferencia fenotípica que pueda detectarse entre cepas congénicas se relaciona con la región genética que distingue las cepas. Es posible producir cepas congénicas idénticas entre sí excepto en el MHC mediante una serie de cruzamientos directos y reversivos y selecciones entre dos cepas endogámicas que difieren en el MHC. Una cepa congénica de uso frecuente, designada B10.A, proviene de ratones B10 (H-2^b) pero tiene el haplotipo H-2^a. En varios casos se han observado haplotipos recombinantes en ratones congénicos, lo cual permite el estudio de genes MHC individuales y sus productos. En la lista del cuadro 8-1 se presentan algunos ejemplos. Así, la cepa B10.A (2R) tiene todos los genes MHC del haplotipo *a* excepto por la región D, que proviene del progenitor H-2^b.

La producción de cepas murinas con diferentes genes desactivados ha aportado más indicios sobre la función de los productos del MHC. Uno de los primeros ejemplos es una cepa en la que se eliminó el gen para la microglobulina β_2 (el cual se expresa con moléculas de clase I en la superficie celular); ello inhibió la mayor parte de la expresión de moléculas MHC clase I en la superficie de la célula. Aunque no pudieron detectarse antígenos de clase I, los animales tenían aspecto normal y eran fecundos; sin embargo, carecían de linfocitos T citotóxicos $CD8^+$ y tenían dificultad para combatir infecciones y para rechazar tumores trasplantados. Los ratones con desactivación de la clase II carecían de linfocitos T $CD4^+$ en bazo y linfáticos y no eran capaces de reaccionar a antígenos dependientes de células T (cap. 10). Las funciones respectivas de los antígenos clase I y clase II en el desarrollo de inmunidad se describen más adelante.

Moléculas y genes MHC

Las moléculas MHC clase I y clase II son glucoproteínas unidas a membrana que se relacionan de manera estrecha tanto en estructura como en función. Las dos moléculas MHC clase I y clase II se aislaron y purificaron, y las estructuras tridimensionales de sus dominios extracelulares se determinaron mediante cristalografía con rayos X. Ambos tipos de glucoproteínas de membrana funcionan como moléculas presentadoras de antígeno muy especializadas que forman complejos excepcionalmente estables con péptidos antigénicos, los cuales se exhiben en la superficie celular para reconocimiento por células T. En contraste, las moléculas MHC clase III son un grupo de proteínas no relacionadas que no comparten la similitud estructural y funcional con las moléculas clase I y II. Entre las moléculas clase III se incluyen proteínas del complemento (cap. 7).

Las moléculas clase I tienen una cadena pesada de glucoproteína y una cadena ligera proteínica pequeña

Las moléculas MHC clase I contienen una cadena α de 45 kilodaltons (kDa) vinculada de manera no covalente con una molécula de **microglobulina β_2** de 12 kDA (fig. 8-3). La cadena α es una glucoproteína transmembranal codificada por genes polimórficos dentro de las regiones A, B y C del complejo HLA humano, y dentro de las regiones K y D del complejo H-2 de ratón (fig. 8-1). La microglobulina β_2 es una proteína codificada por un gen altamente conservado que se localiza en un cromosoma diferente. La expresión de moléculas clase I en membranas celulares requiere la vinculación de la cadena α con la microglobulina β_2. La cadena α se fija en la membrana plasmática por medio de su segmento transmembranal hidrófobo y la cola citoplásmica hidrófila.

Análisis estructurales revelaron que la cadena α de las moléculas MHC clase I está organizada en tres dominios externos (α-1, α-2 y α-3), que contienen alrededor de 90 aminoácidos

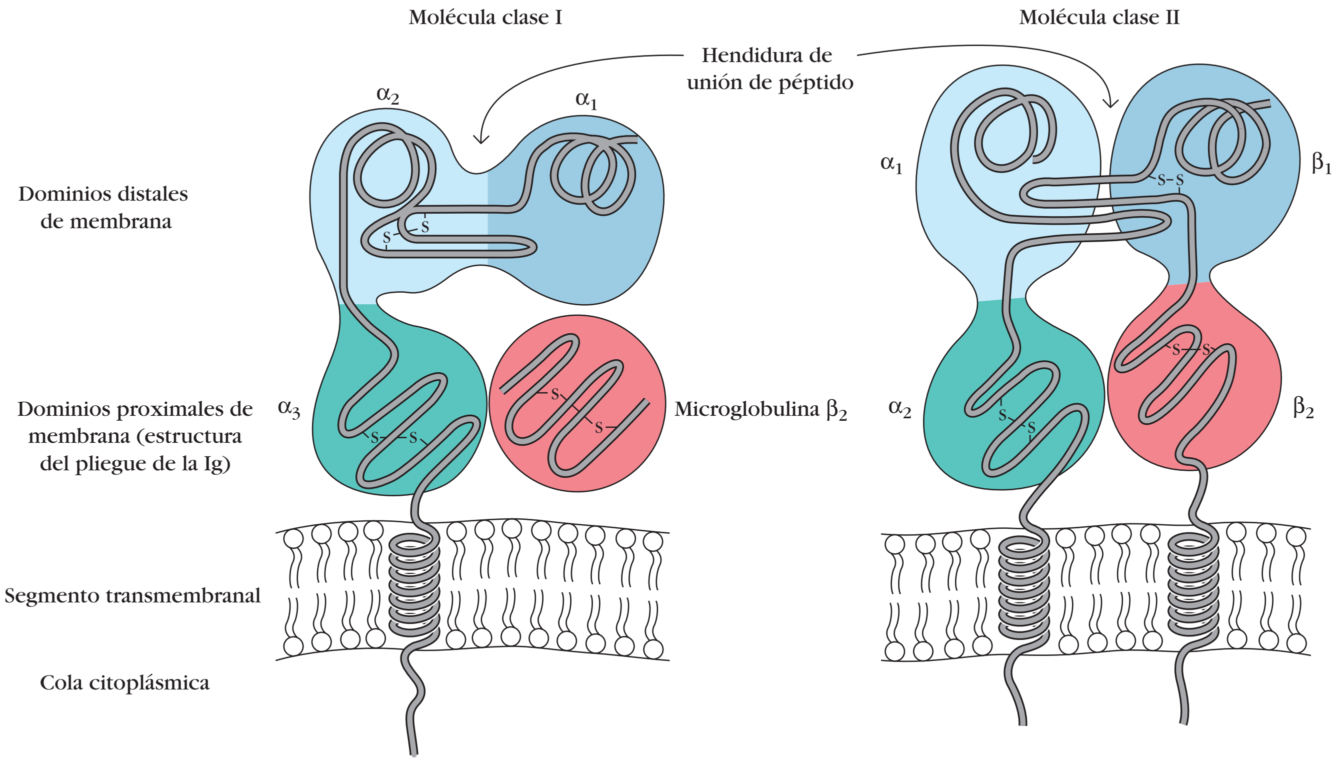


FIGURA 8-3 Esquemas de la molécula MHC clase I y clase II que muestran los dominios externos, el segmento transmembranal y la cola citoplásmica. La hendidura de unión de péptido está formada por dominios distales de membrana tanto en las moléculas clase I como en la clase II. Los dominios proximales de membrana poseen la estructura básica del pliegue de inmunoglobulina; por tanto, las moléculas MHC clase I y clase II se clasifican como miembros de la superfamilia de las inmunoglobulinas.

cada uno; un dominio transmembranal de unos 25 aminoácidos hidrófobos seguido de un tramo corto de aminoácidos con carga (hidrófilos), y un segmento ancla citoplásmico de 30 aminoácidos. La microglobulina β_2 tiene tamaño y organización similares a los del dominio α-3; no contiene una región transmembranal y se une de manera no covalente a la glucoproteína clase I. Los datos de secuencia revelan homología entre el dominio α-3, la microglobulina β_2 y los dominios de región constante en las inmunoglobulinas. La enzima papaína escinde la cadena α apenas a 13 residuos en sentido proximal a su dominio transmembranal y libera la porción extracelular de la molécula, que consiste en α-1, α-2, α-3 y microglobulina β_2. La purificación y cristalización de la porción extracelular reveló dos pares de dominios interactuantes: un par distal de membrana constituido por los dominios α-1 y α-2, y uno proximal de membrana compuesto por el dominio α-3 y la microglobulina β_2 (fig. 8-4a).

Los dominios α-1 y α-2 interactúan para formar una plataforma de ocho hileras β antiparalelas abarcadas por dos regiones helicoidales α largas. La estructura forma un surco profundo, o hendidura, de alrededor de 25 Å × 10 Å × 11 Å, con las largas hélices α a los lados y las hileras β de la lámina β como fondo (fig. 8-4b). Esta *hendidura de unión de péptido* (o *a péptido*) se localiza en la superficie superior de la molécula MHC clase I y es lo bastante grande para unir un péptido de ocho a 10 aminoácidos. La gran sorpresa en el análisis cristalográfico con rayos X de moléculas clase I fue encontrar péptidos pequeños en la hendidura que se cocristalizaron con la proteína. De hecho, estos péptidos son antígeno procesado y péptidos propios unidos a los dominios α-1 y α-2 en este surco profundo.

El dominio α-3 y la microglobulina β_2 están organizados en dos láminas plegadas β, cada una formada por hileras β antiparalelas de aminoácidos. Como se describe en el capítulo 4, esta estructura, que se conoce como pliegue de la inmunoglobulina, es característica de los dominios de inmunoglobulina. A causa de esta similitud estructural, que no es sorprendente dada la considerable similitud de secuencia con las regiones constantes de la inmunoglobulina, las móleculas MHC clase I y la microglobulina β_2 se clasifican como miembros de la superfamilia de las inmunoglobulinas (fig. 4-23). Al parecer el dominio α-3 está altamente conservado entre las moléculas MHC clase I y contiene una secuencia que interactúa con la molécula de membrana CD8 presente en las células T_C.

La microglobulina β_2 interactúa en forma extensa con el dominio α-3 y también con aminoácidos de los dominios α-1 y α-2. La interacción de la microglobulina β_2 y un péptido con una cadena α clase I es esencial para que la molécula clase I alcance su conformación completamente plegada. Como se describe en detalle más adelante, se cree que el ensamblaje de las moléculas clase I ocurre por la interacción inicial de la microglobulina β_2 con la cadena α clase I en plegamiento. Este

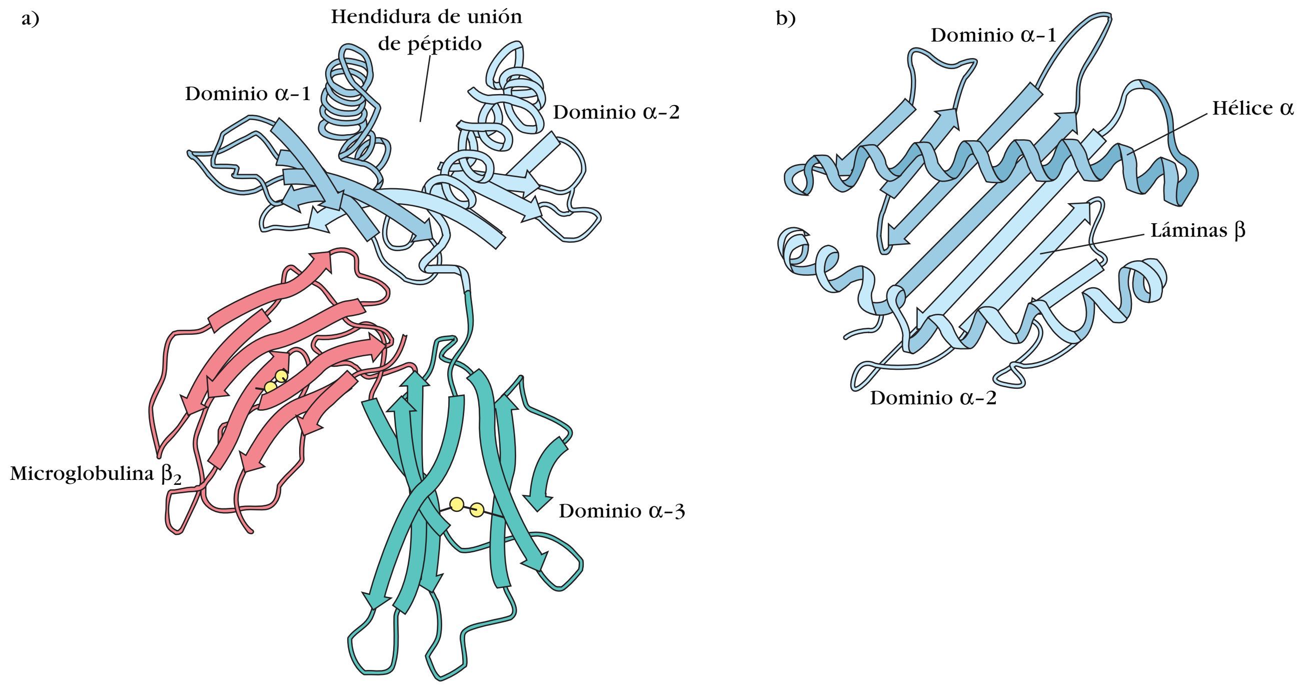


FIGURA 8-4 Representaciones de la estructura tridimensional de los dominios externos de una molécula MHC clase I humana con base en el análisis cristalográfico con rayos X. a) Vista lateral en la que se muestran las hileras β como flechas gruesas y las hélices α como listones en espiral. Los enlaces disulfuro se ilustran como dos esferas interconectadas. Los dominios α-1 y α-2 interactúan para formar la hendidura de unión de péptido. Obsérvense la estructura del pliegue de la inmunoglobulina del dominio α-3 y la microglobulina β_2. b) Dominios α-1 y α-2 vistos desde arriba; muestran la hendidura de unión de péptido, que consiste en una base de hileras β antiparalelas y lados de hélices α. Esta hendidura en las moléculas clase I puede incluir péptidos que contienen ocho a 10 residuos.

dímero “vacío” metastable es estabilizado luego por la unión de un péptido apropiado para formar la estructura clase I trimérica natural que consiste en la cadena α clase I, la microglobulina β_2 y un péptido. Este complejo molecular completo es transportado finalmente a la superficie celular.

Experimentos in vitro indican que en ausencia de microglobulina β_2, la cadena α del MHC clase I no se expresa en la membrana celular. Esto lo ilustran las células tumorales Daudi, que son incapaces de sintetizar microglobulina β_2. Estas células tumorales producen cadenas α de MHC clase I, pero no las expresan en la membrana. Sin embargo, si las células Daudi se transfectan con un gen funcional que codifica microglobulina β_2, en la membrana aparecen moléculas clase I.

Las moléculas clase II tienen dos cadenas glucoproteínicas distintas

Las moléculas MHC clase II contienen dos cadenas polipeptídicas diferentes, una cadena α de 33 kDa y una cadena β de 28 kDa, que se vinculan mediante interacciones no covalentes (fig. 8-3, derecha). Como las cadenas α clase I, las moléculas MHC clase II son glucoproteínas unidas a membrana que contienen dominios externos, un segmento transmembranal y un segmento ancla citoplásmico. Cada cadena en una molécula clase II contiene dos dominios externos: dominios α-1 y α-2 en una cadena, y dominios β-1 y β-2 en la otra. Los dominios α-2 y β-2 proximales a la membrana, como los dominios α-3/microglobulina β_2 proximales a la membrana de las moléculas MHC clase II, muestran similitud de secuencia con la estructura del pliegue de inmunoglobulina; por esta razón las moléculas MHC clase II se clasifican también en la superfamilia de las inmunoglobulinas. La porción distal a la membrana de una molécula clase II está compuesta por los dominios α-1 y β-1 y forma la hendidura de unión a antígeno para el antígeno procesado.

El análisis cristalográfico con rayos X muestra la similitud de las moléculas clase II y clase I, que se evidencia cuando éstas se superponen (fig. 8-5). La hendidura de unión a péptido de HLA-DR1, como en las moléculas clase I, está compuesta por un piso de ocho hileras antiparalelas β y lados de hélices antiparalelas α. Sin embargo, la molécula clase II carece de los residuos conservados en la clase I que se unen a los residuos terminales de péptidos cortos y en su lugar forma un bolsillo abierto; la clase I presenta más bien un cuenco, y la clase II, un surco de extremos abiertos. Las consecuencias funcionales de tales diferencias en la estructura fina se analizan más adelante.

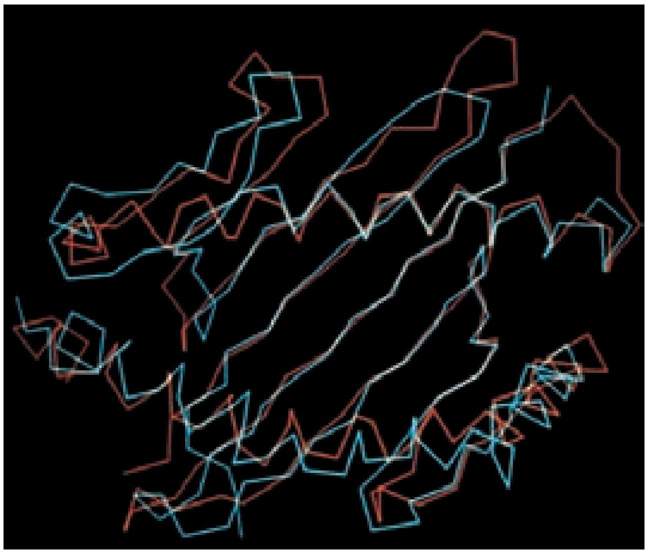


FIGURA 8-5 Hendidura de unión de péptido, distal de la membrana, de una molécula MHC clase II humana, HLA-DR1 (azul), superpuesta a las regiones correspondientes de una molécula MHC clase I humana, HLA-A2 (rojo). *[Tomada de J. H. Brown et al., 1993,* Nature ***364****:33.]*

La disposición de exones e intrones en los genes clase I y clase II refleja su estructura de dominio

Exones separados codifican cada región de las proteínas clase I y clase II (fig. 8-6). Cada uno de los genes clase I del ratón y el ser humano tiene un exón líder 5′ que codifica un péptido señal corto seguido de cinco o seis exones que codifican la cadena α de la molécula clase I (fig. 8-6a). El péptido señal facilita la inserción de la cadena α en el retículo endoplásmico y es eliminado por enzimas proteolíticas en este último una vez que la traducción se completa. Los tres exones siguientes codifican los dominios extracelulares α-1, α-2 y α-3, y el siguiente exón corriente abajo codifica la región transmembranal (T_m); por último uno o dos exones del extremo 3′ terminal codifican los dominios citoplásmicos (C).

Como los genes MHC clase I, los de la clase II están organizados en una serie de exones e intrones que reflejan la estructura de dominio de las cadenas α y β (fig. 8-6b). Tanto los genes α como los β que codifican moléculas MHC clase I de ratón y humanas tienen un exón líder, un exón α-1 o β-1, un exón α-2 o β-2, un exón transmembranal y uno o más exones citoplásmicos.

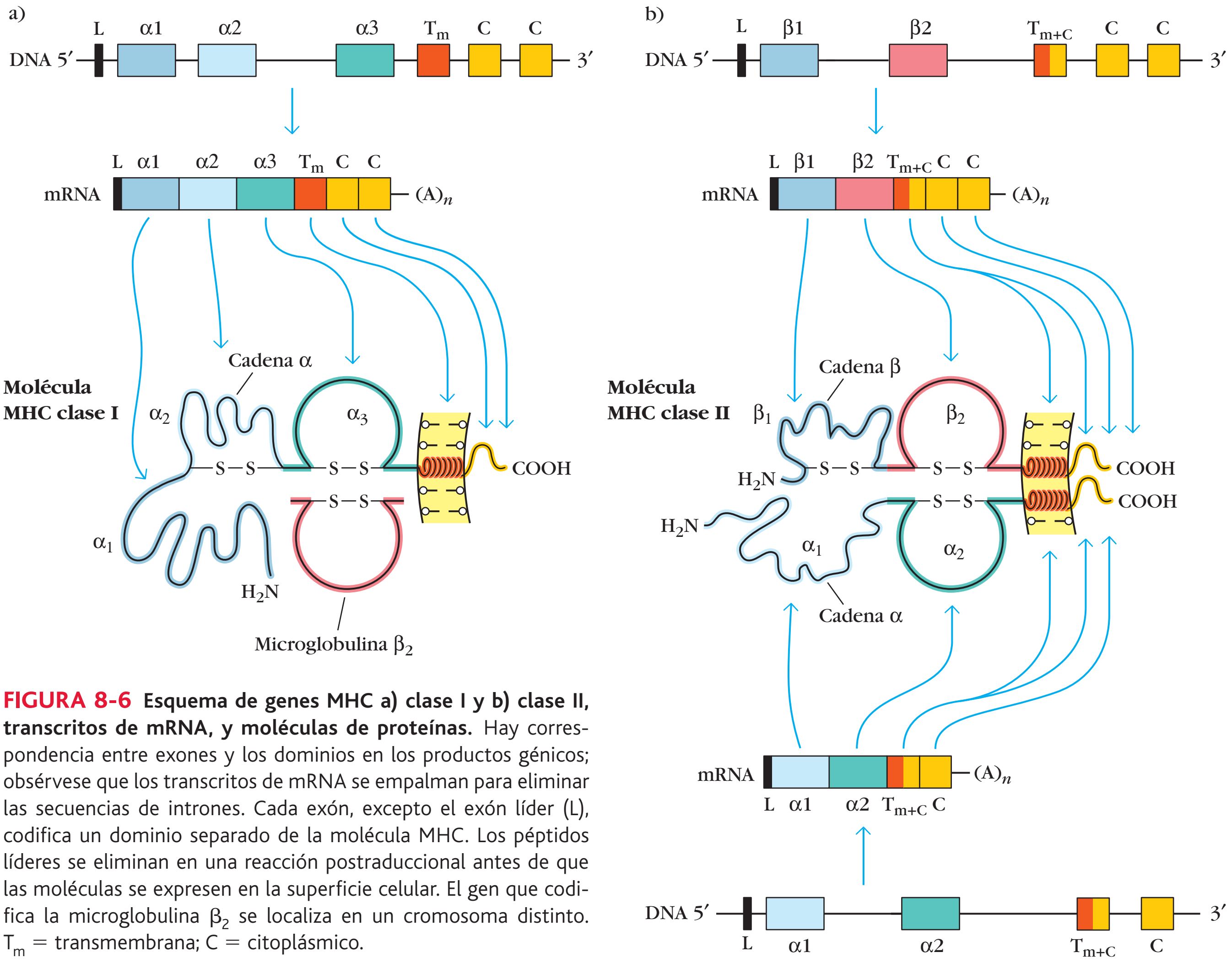

a)
L α1 α2 α3 Tm C C
DNA 5′ 3′
L α1 α2 α3 Tm C C
mRNA (A)n
Molécula MHC clase I
Cadena α
α2
α3
S—S
S—S
S—S
COOH
α1
H2N
Microglobulina β2
b)
L β1 β2 Tm+C C C
DNA 5′ 3′
L β1 β2 Tm+C C C
mRNA (A)n
Molécula MHC clase II
Cadena β
β1
β2
H2N
S—S
S—S
S—S
COOH
COOH
H2N
α1
α2
Cadena α
mRNA (A)n
L α1 α2 Tm+C C
DNA 5′ 3′
L α1 α2 Tm+C C

FIGURA 8-6 Esquema de genes MHC a) clase I y b) clase II, transcritos de mRNA, y moléculas de proteínas. Hay correspondencia entre exones y los dominios en los productos génicos; obsérvese que los transcritos de mRNA se empalman para eliminar las secuencias de intrones. Cada exón, excepto el exón líder (L), codifica un dominio separado de la molécula MHC. Los péptidos líderes se eliminan en una reacción postraduccional antes de que las moléculas se expresen en la superficie celular. El gen que codifica la microglobulina $β_2$ se localiza en un cromosoma distinto. T_m = transmembrana; C = citoplásmico.

CUADRO 8-2 Unión de péptidos por moléculas MHC clase I y clase II

	Moléculas clase I	Moléculas clase II
Dominio de unión de péptido	$\alpha 1/\alpha 2$	$\alpha 1/\beta 1$
Naturaleza de la hendidura de unión de péptido	Cerrada en ambos extremos	Abierta en ambos extremos
Tamaño general de los péptidos unidos	8 a 10 aminoácidos	13 a 18 aminoácidos
Elementos peptídicos que participan en la unión a la molécula MHC	Residuos de fijación en ambos extremos del péptido; por lo general ancla hidrófoba en el extremo carboxilo terminal	Residuos de fijación distribuidos a todo lo largo del péptido
Naturaleza del péptido unido	Estructura extendida en la que ambos extremos interactúan con la hendidura de MHC pero la parte media se arquea alejándose de la molécula MHC	Estructura extendida que se mantiene a una elevación constante arriba del piso de la hendidura del MHC

Las moléculas clase I y clase II muestran polimorfismo en la región que se une a péptidos

Varios cientos de variantes alélicas diferentes de moléculas MHC clase I y clase II se han identificado en el ser humano. Sin embargo, cualquier persona sólo expresa una cifra pequeña de estas moléculas —hasta seis diferentes moléculas clase I y hasta 12 moléculas clase II distintas—. No obstante, esta cifra limitada de moléculas MHC debe ser capaz de presentar una serie enorme de diferentes péptidos antigénicos a células T y permitir que el sistema inmunitario reaccione de manera específica a una variedad amplia de contactos antigénicos. Por consiguiente, la unión de péptidos por moléculas clase I y clase II no muestra la característica de especificidad fina de la unión de antígeno por anticuerpos y receptores de célula T. En cambio, una molécula MHC determinada puede unir múltiples péptidos diferentes, y algunos péptidos pueden unirse a varias moléculas MHC distintas. La unión entre un péptido y una molécula MHC a menudo se denomina "promiscua" por esta especificidad amplia.

Con base en las similitudes estructurales de la hendidura de unión a péptido en las moléculas MHC clase I y clase II, no sorprende que compartan algunas características de unión a péptidos (cuadro 8-2). En ambos tipos de moléculas MHC, los ligandos péptidos se sostienen en una conformación en gran medida extendida que sigue toda la longitud de la hendidura. La hendidura de unión a péptido en moléculas clase I está bloqueada en ambos extremos, en tanto que en las moléculas clase II está abierta (fig. 8-7). Como resultado de esta diferencia las moléculas clase I unen péptidos que suelen consistir en ocho a 10 aminoácidos, mientras que el surco abierto de las moléculas clase II acomoda péptidos un poco más largos, de 13 a 18 residuos. Otra diferencia, que se explica con mayor detalle más adelante, radica en que la unión de clase I requiere que el péptido contenga aminoácidos específicos cerca de los extremos N y C terminales; ello es innecesario en la unión a péptido clase II.

La unión de péptido y molécula MHC es muy estable en condiciones fisiológicas (los valores de K_d varían entre 10^{-6} y 10^{-10}); por ello la mayoría de las moléculas MHC que se expresan en la membrana de una célula se une a un péptido de origen propio o extraño.

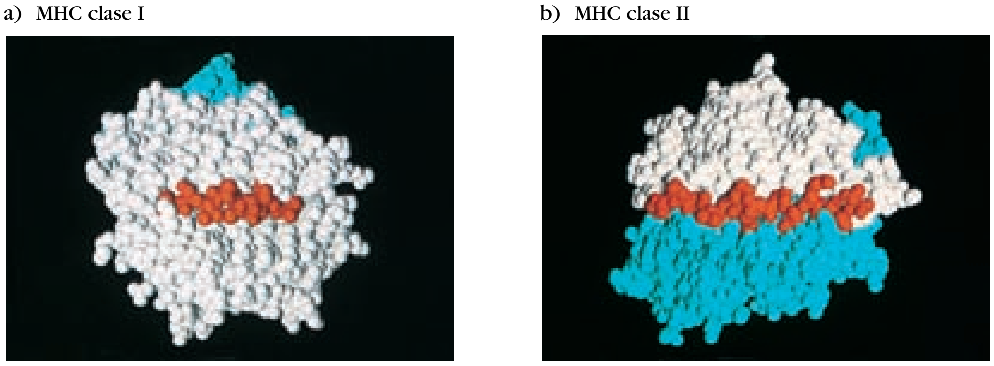


FIGURA 8-7 Moléculas MHC clase I y clase II con péptidos unidos. a) Modelo de espacio lleno de la molécula HLA-A2 clase I humana (blanco) con péptido (rojo) de inversotranscriptasa de VIH (residuos 309 a 317) en el surco de unión. La microglobulina β_2 se muestra en azul. Los residuos arriba del péptido son del dominio α-1; los situados abajo, del α-2. b) Modelo de espacio lleno de moléculas HLA-DR1 clase II humanas con la cadena DRα en blanco y la cadena DRβ en azul. El péptido (rojo) en el surco de unión es de hemaglutinina de la gripe (residuos 306 a 318). *[Tomada de D. A. Vignali y J. Strominger, 1994,* The Immunologist ***2****:112.]*

Interacción MHC clase I-péptido

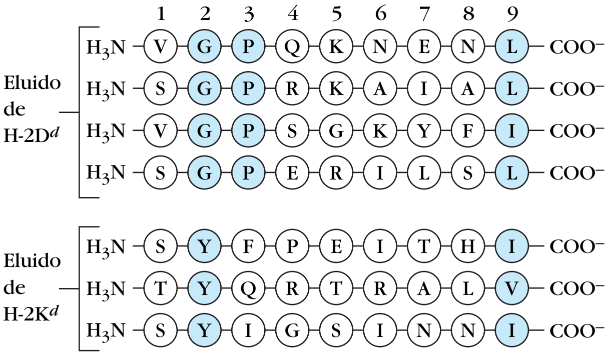
Las moléculas MHC clase I fijan péptidos y los presentan a células T CD8$^+$. En general estos péptidos se derivan de proteínas intracelulares endógenas que se digieren en el citosol. A continuación los péptidos son transportados del citosol a las cisternas del retículo endoplásmico, donde interactúan con moléculas MHC clase I. Este proceso, que se conoce como vía citosólica o endógena de procesamiento, se estudia con detalle más adelante.

Cada tipo de molécula MHC clase I (K, D y L en ratones o A, B y C en seres humanos) une un grupo único de péptidos. Además, cada variante alélica de una molécula MHC clase I (p. ej., H-2K^k y H-2K^d) también une un grupo distinto de péptidos. Ya que una sola célula nucleada expresa alrededor de 10^5 copias de cada molécula clase I, las moléculas MHC clase I expresarán al mismo tiempo muchos péptidos diferentes en la superficie de una célula nucleada.

En un estudio fundamental de la unión de péptidos por moléculas MHC, los péptidos unidos por dos variantes alélicas de una molécula MHC clase I se liberaron por medios químicos y se analizaron mediante cromatografía en líquido de alto rendimiento (HPLC) y espectrometría de masa. Se encontraron más de 2 000 péptidos distintos entre los ligandos péptidos liberados de estas dos moléculas MHC clase I. Puesto que hay alrededor de 10^5 copias de cada variante alélica clase I por célula, se estima que cada uno de los 2 000 péptidos distintos se presenta con una frecuencia de 100 a 4 000 copias por célula. Las pruebas sugieren que se necesitan apenas 100 complejos péptido-MHC para que una célula sea el blanco de reconocimiento y lisis por un linfocito T citotóxico con un receptor específico para esta estructura blanco.

Se encontró que los péptidos unidos aislados de diferentes moléculas clase I tienen dos características distintivas: son de ocho a 10 aminoácidos de largo, con mayor frecuencia nueve, y contienen residuos específicos que al parecer resultan esenciales para la unión a una molécula MHC particular. Estudios de unión demostraron que los péptidos nonaméricos se unen a moléculas clase I con afinidad 100 a 1 000 veces mayor que los péptidos que son más largos o más cortos, lo que sugiere que esta longitud de péptido es más compatible con la hendidura de unión de péptidos de extremo cerrado en las moléculas clase I. La capacidad de una molécula MHC clase I individual de fijar una gama diversa de péptidos se debe a la presencia de los mismos residuos u otros similares en varias posiciones definidas a lo largo de los péptidos (fig. 8-8). Como estos aminoácidos fijan el péptido dentro del surco de la molécula MHC, se denominan *residuos ancla* o *de fijación*. Las cadenas laterales de los residuos ancla en el péptido se complementan con las características de la superficie de la hendidura de unión de la molécula MHC clase I. Los aminoácidos que recubren los sitios de unión difieren entre las distintas variantes alélicas clase I y determinan la identidad de los residuos de fijación que pueden interactuar con la molécula.

Todos los péptidos examinados hasta la fecha que se unen a moléculas clase I contienen un ancla carboxilo terminal. Estas anclas suelen ser residuos hidrófobos (p. ej., leucina, isoleucina), aunque se informan unos cuantos aminoácidos con carga. Además del residuo de fijación que se encuentra en el extremo carboxilo terminal, a menudo se encuentra otra ancla en las posiciones segunda o segunda y tercera en el extremo amino terminal del péptido (fig. 8-8). En general cualquier péptido de la longitud correcta que contenga los mismos residuos de fijación u otros similares se unirá a la misma molécula MHC clase I. Es posible que el descubrimiento de residuos de fijación conservados en péptidos que se unen a varias moléculas MHC clase I permita predecir los péptidos en un antígeno complejo que se unirán a una molécula MHC particular, con base en la presencia o ausencia de estos motivos.


1 2 3 4 5 6 7 8 9
Eluido de H-2D^d
H_3N V G P Q K N E N L COO$^-$
H_3N S G P R K A I A L COO$^-$
H_3N V G P S G K Y F I COO$^-$
H_3N S G P E R I L S L COO$^-$
Eluido de H-2K^d
H_3N S Y F P E I T H I COO$^-$
H_3N T Y Q R T R A L V COO$^-$
H_3N S Y I G S I N N I COO$^-$

A = Alanina
E = Ácido glutámico
F = Fenilalanina
G = Glicina
H = Histidina
I = Isoleucina
K = Lisina
L = Leucina
N = Asparagina
P = Prolina
Q = Glutamina
R = Arginina
S = Serina
T = Treonina
V = Valina
Y = Tirosina

FIGURA 8-8 Ejemplos de residuos de fijación (azul) en péptidos nonaméricos eluidos de dos moléculas MHC clase I. Los residuos de fijación o ancla que interactúan con la molécula MHC clase I tienden a ser aminoácidos hidrófobos. *[Datos de V. H. Engelhard, 1994,* Current Opinion in Immunology ***6:**13.]*

El análisis cristalográfico con rayos X de complejos péptido-MHC clase I ha revelado el modo en que la hendidura que une péptido en una molécula MHC determinada puede interactuar en forma estable con una gama amplia de péptidos distintos. Los residuos de fijación en ambos extremos del péptido encajan dentro de la hendidura de unión y por tanto sostienen al péptido con firmeza en su sitio (fig. 8-7). Como ya se dijo, se unen de preferencia péptidos nonaméricos; los principales contactos entre las moléculas MHC clase I y los péptidos incluyen el residuo 2 en el extremo amino terminal y el residuo 9 en el extremo carboxilo terminal del péptido nonamérico. Entre las anclas, el péptido se arquea alejándose del piso de la hendidura en la parte media (fig. 8-9), lo que permite que tengan cabida péptidos un poco más largos o cortos. Los aminoácidos que se arquean en sentido opuesto a la molécula MHC están más expuestos y se supone que pueden interactuar de modo más directo con el receptor de célula T.

Interacción MHC clase II-péptido

Las moléculas MHC clase II unen péptidos y los presentan a células T CD4$^+$. Como las moléculas clase I, las de clase II pueden unir una diversidad de péptidos. En general estos péptidos se derivan de proteínas exógenas (ya sea propias o extrañas), que se degradan dentro de la vía endocítica de procesamiento (véase más adelante). La mayoría de los péptidos que se unen a

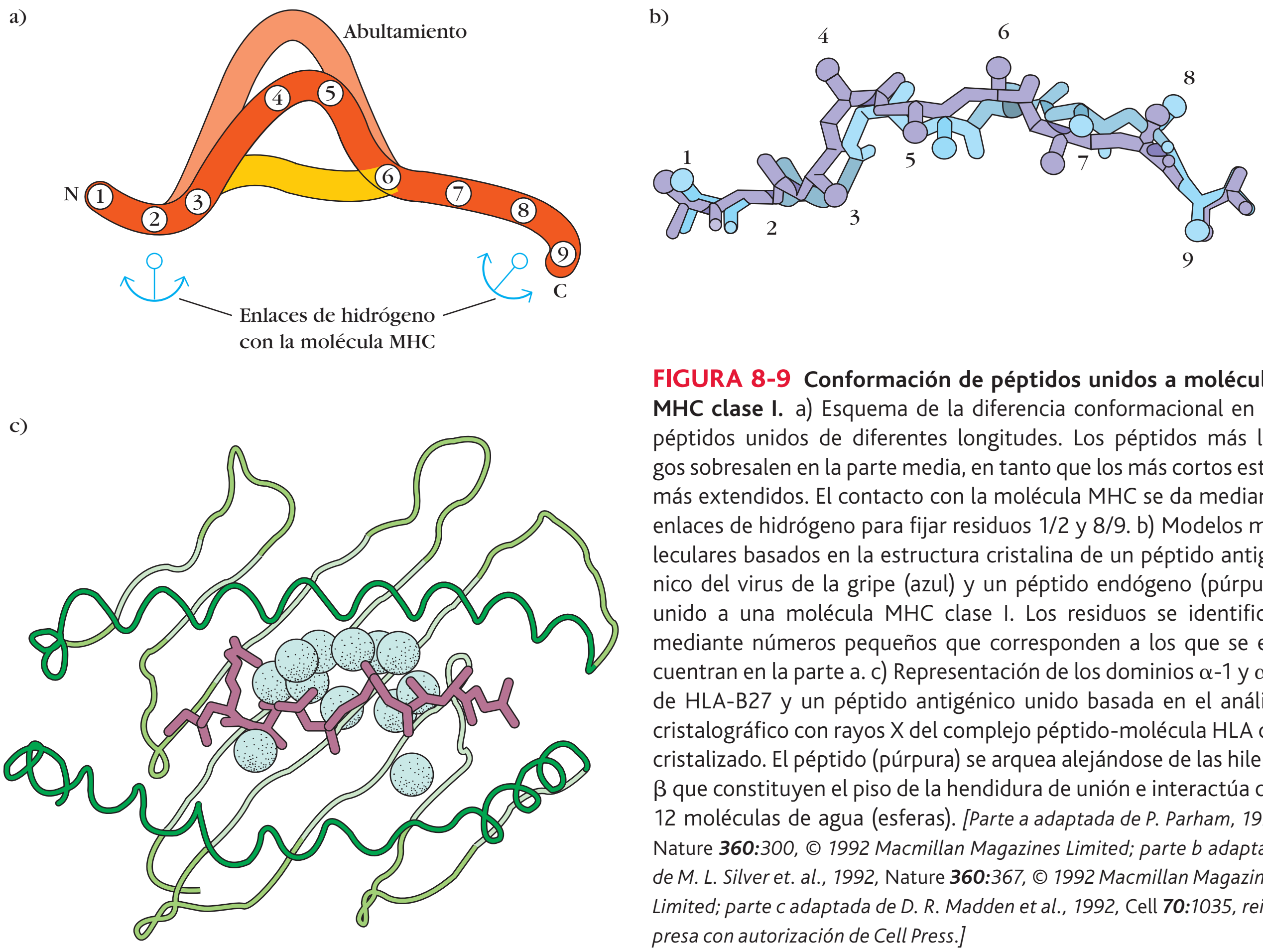


FIGURA 8-9 Conformación de péptidos unidos a moléculas MHC clase I. a) Esquema de la diferencia conformacional en los péptidos unidos de diferentes longitudes. Los péptidos más largos sobresalen en la parte media, en tanto que los más cortos están más extendidos. El contacto con la molécula MHC se da mediante enlaces de hidrógeno para fijar residuos 1/2 y 8/9. b) Modelos moleculares basados en la estructura cristalina de un péptido antigénico del virus de la gripe (azul) y un péptido endógeno (púrpura) unido a una molécula MHC clase I. Los residuos se identifican mediante números pequeños que corresponden a los que se encuentran en la parte a. c) Representación de los dominios α-1 y α-2 de HLA-B27 y un péptido antigénico unido basada en el análisis cristalográfico con rayos X del complejo péptido-molécula HLA cocristalizado. El péptido (púrpura) se arquea alejándose de las hileras β que constituyen el piso de la hendidura de unión e interactúa con 12 moléculas de agua (esferas). *[Parte a adaptada de P. Parham, 1992,* Nature ***360****:300, © 1992 Macmillan Magazines Limited; parte b adaptada de M. L. Silver et. al., 1992,* Nature ***360****:367, © 1992 Macmillan Magazines, Limited; parte c adaptada de D. R. Madden et al., 1992,* Cell ***70****:1035, reimpresa con autorización de Cell Press.]*

moléculas MHC clase II se deriva de proteínas propias unidas a la membrana o proteínas ajenas internalizadas por fagocitosis o por endocitosis mediada por receptor y luego procesadas en la vía endocítica. Por ejemplo, los péptidos derivados de la digestión de moléculas MHC clase I unidos a membrana con frecuencia se unen a moléculas MHC clase II.

Los péptidos recuperados de complejos MHC clase II-péptido suelen contener 13 a 18 residuos, de modo que son un poco más largos que los péptidos nonaméricos que más a menudo se unen a moléculas clase I. La hendidura que une péptido en las moléculas clase II está abierta en ambos extremos (fig. 8-7b), y ello permite que los péptidos más largos se extiendan más allá de los extremos, como una salchicha larga en un pan. Los péptidos unidos a moléculas MHC clase II mantienen una elevación más o menos constante sobre el piso de la hendidura de unión, otra característica que distingue la unión de péptidos a moléculas clase I y clase II.

Estudios de unión de péptidos y datos estructurales de las moléculas clase II indican que un núcleo central de 13 aminoácidos determina la capacidad de un péptido de unirse a la clase II. Los péptidos más largos pueden ajustarse dentro de la hendidura clase II, pero los 13 residuos centrales determinan las características de unión. Con frecuencia los péptidos que se unen a una molécula clase II particular tienen "elementos" internos conservados, pero a diferencia de los péptidos de unión a la clase I, carecen de residuos de fijación conservados. Más bien, enlaces de hidrógeno entre la estructura básica del péptido y la molécula clase II se distribuyen a todo lo largo del sitio de unión en vez de agruparse de manera predominante en los extremos del sitio, como en los péptidos unidos a moléculas clase I. Los péptidos que se unen a moléculas MHC clase II contienen una secuencia interna que comprende siete a 10 aminoácidos que proporcionan los principales puntos de contacto. Por lo general esta secuencia tiene un residuo aromático o hidrófobo en el extremo amino y tres residuos hidrófobos adicionales en la porción media y el extremo carboxilo terminal del péptido. Además, más de 30% de los péptidos eluidos de moléculas clase II contiene un residuo prolina en la posición 2 y otro grupo prolina en el extremo carboxilo terminal.

Las moléculas clase I y clase II muestran diversidad dentro de una especie, y se presentan múltiples formas de ellas en un individuo

Las moléculas MHC muestran una diversidad enorme dentro de una especie y entre los individuos. Aunque esta variabilidad indica la diversidad de anticuerpos y receptores de célula T, el origen de la diversidad para las moléculas MHC no es el mismo. Los anticuerpos y los receptores de célula T se generan mediante varios procesos somáticos, inclusive redisposición génica y mutación somática de genes reordenados (cuadro 5-2). Por consiguiente, la generación de receptores de células T y B es dinámica y cambia con el tiempo en un individuo. En contraste, las moléculas MHC que una persona expresa están fijadas en los genes y no cambian con el tiempo. La diversidad del MHC dentro de una especie proviene del polimorfismo, la presencia de múltiples alelos en un locus genético determinado dentro de la especie. La diversidad de moléculas MHC en un individuo no sólo resulta de la posesión de diferentes alelos de cada gen sino también de la presencia de genes duplicados con funciones similares o superpuestas, no distintas de los isotipos de inmunoglobulinas. Ya que ello incluye genes con estructura y función similares, pero no idénticas (p. ej., HLA-A, B y C), puede decirse que el MHC es **poligénico**.

El complejo mayor de histocompatibilidad posee un número extraordinariamente grande de alelos diferentes en cada locus y es uno de los complejos genéticos más polimórficos que se conocen en vertebrados superiores. Estos alelos difieren en sus secuencias de DNA de una persona a otra en 5 a 10%. El número de diferencias de aminoácidos entre los alelos de MHC puede ser muy importante, con hasta 20 aminoácidos que contribuyen a la naturaleza estructural única de cada alelo. Hasta el año 2006, el análisis de genes de HLA clase I humano ha revelado unos 370 alelos A, 660 alelos B y 190 alelos C. El polimorfismo también es enorme en ratones. Asimismo, los genes clase II humanos son altamente polimórficos, y en algunos casos hay diferentes cantidades de genes en distintos individuos. El número de genes de cadena β de HLA-DR puede variar de dos a nueve en diferentes haplotipos, y se han descrito alrededor de 480 alelos de genes DRB. Un hecho interesante es que la cadena DRA está muy conservada y sólo se conocen tres alelos diferentes. Es probable que las estimaciones actuales del polimorfismo real en el MHC humano se encuentren en el lado bajo, porque la mayor parte de los datos detallados se obtuvieron de poblaciones de descendencia europea. El hecho de que no sea posible tipificar a muchos grupos de poblaciones no europeas mediante el uso de los reactivos de tipificación serológica de MHC disponibles indica que la diversidad mundial de genes de MHC es mucho mayor. Ahora que los genes de MHC pueden secuenciarse en forma directa, se espera detectar muchos alelos adicionales.

Este enorme polimorfismo da como resultado una gran diversidad de moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad dentro de una especie. Los números mencionados antes para las formas alélicas de HLA-A, B y C humanas permiten calcular la cifra teórica de combinaciones al multiplicar $370 \times 660 \times 190$, con lo que se obtiene más de 46 millones de diferentes haplotipos clase I posibles en la población. Si se consideran los loci clase II, los cinco genes que codifican la cadena β (genes DRB, B1 a B5) tienen 400, 1, 42, 13 y 18 alelos, respectivamente, DQA1 y B1 contribuyen con 28 y 62 alelos, respectivamente, y DPB1 con 118 alelos; esto permite unas 8.0×10^{11} diferentes combinaciones de clase II. Como cada haplotipo contiene genes tanto de clase I como de clase II, las cifras se multiplican para obtener un total de casi 4×10^{19} posibles combinaciones de estos alelos de clases I y II.

Desequilibrio de ligadura

El cálculo del párrafo previo, que lleva a estimaciones astronómicas de posibles haplotipos de antígenos de histocompatibilidad leucocitaria, supone combinaciones de alelos por completo aleatorias. Se sabe que la diversidad real es menor porque ciertas combinaciones alélicas ocurren con mayor frecuencia en haplotipos HLA que lo predicho por la combinación aleatoria, un estado que se denomina *desequilibrio de ligadura* (o *de enlace*). Brevemente, el desequilibrio de ligadura es la diferencia entre la frecuencia observada para una combinación particular de alelos y la *esperada* con base en las frecuencias de los alelos individuales. La frecuencia esperada para la combinación puede calcularse multiplicando las frecuencias de los dos alelos. Por ejemplo, si HLA-A1 ocurre en 16% de los individuos en una población (frecuencia = 0.16) y HLA-B8 en 9% de ese grupo (frecuencia = 0.09), cabe esperar que alrededor de 1.4% del grupo tenga ambos alelos ($0.16 \times 0.09 = 0.014$). Sin embargo, los datos muestran que HLA-A1 y HLA-B8 se encuentran juntos en 8.8% de los individuos estudiados. Esta diferencia es una medida del desequilibrio de ligadura entre estos alelos de genes MHC clase I.

Se han propuesto varias explicaciones para el desequilibrio de ligadura. La más sencilla es que han transcurrido muy pocas generaciones para permitir el número de entrecruzamientos necesarios para poder alcanzar el equilibrio entre los alelos presentes en los fundadores de la población. Los haplotipos con representación excesiva en la población actual reflejarían entonces las combinaciones de alelos presentes en los fundadores. De manera alternativa, los efectos de selectividad también podrían dar por resultado la frecuencia más alta de ciertas combinaciones alélicas. Por ejemplo, algunas combinaciones de alelos proporcionarían resistencia a ciertas enfermedades y harían que se seleccionaran y estuvieran representadas en exceso. Otra posibilidad es que los haplotipos subrepresentados podrían generar efectos perjudiciales, como puede ser la susceptibilidad a trastornos autoinmunitarios, y experimentar selección negativa. Una tercera hipótesis señala que los entrecruzamientos son más frecuentes en ciertas regiones de las secuencias del ácido desoxirribonucleico, y la presencia o ausencia de regiones propensas al entrecruzamiento (puntos calientes) entre los alelos puede regir la frecuencia de vinculación alélica. En estudios de apareamiento de ratones que generaron nuevos tipos de H-2 recombinantes se encontraron datos que apoyan este concepto. Los puntos de entrecruzamiento en los nuevos haplotipos de MHC no se distribuyeron de modo aleatorio en la totalidad del complejo. Por el contrario, las mismas regiones de entrecruzamiento se encontraron en más de un haplotipo recombinante. Ello sugiere que existen puntos calientes de recombinación que influirían en el desequilibrio de ligadura en las poblaciones.

A pesar del desequilibrio de ligadura, aún hay enorme polimorfismo en el MHC humano. Este polimorfismo ha sido generado por recombinación, mutación puntual y conversión génica, todo lo cual contribuye a la diversidad de genes MHC dentro de la población. La comparación de secuencias génicas alélicas revela sustituciones individuales, que son prueba de mutaciones puntuales dentro de los genes, así como concentra-

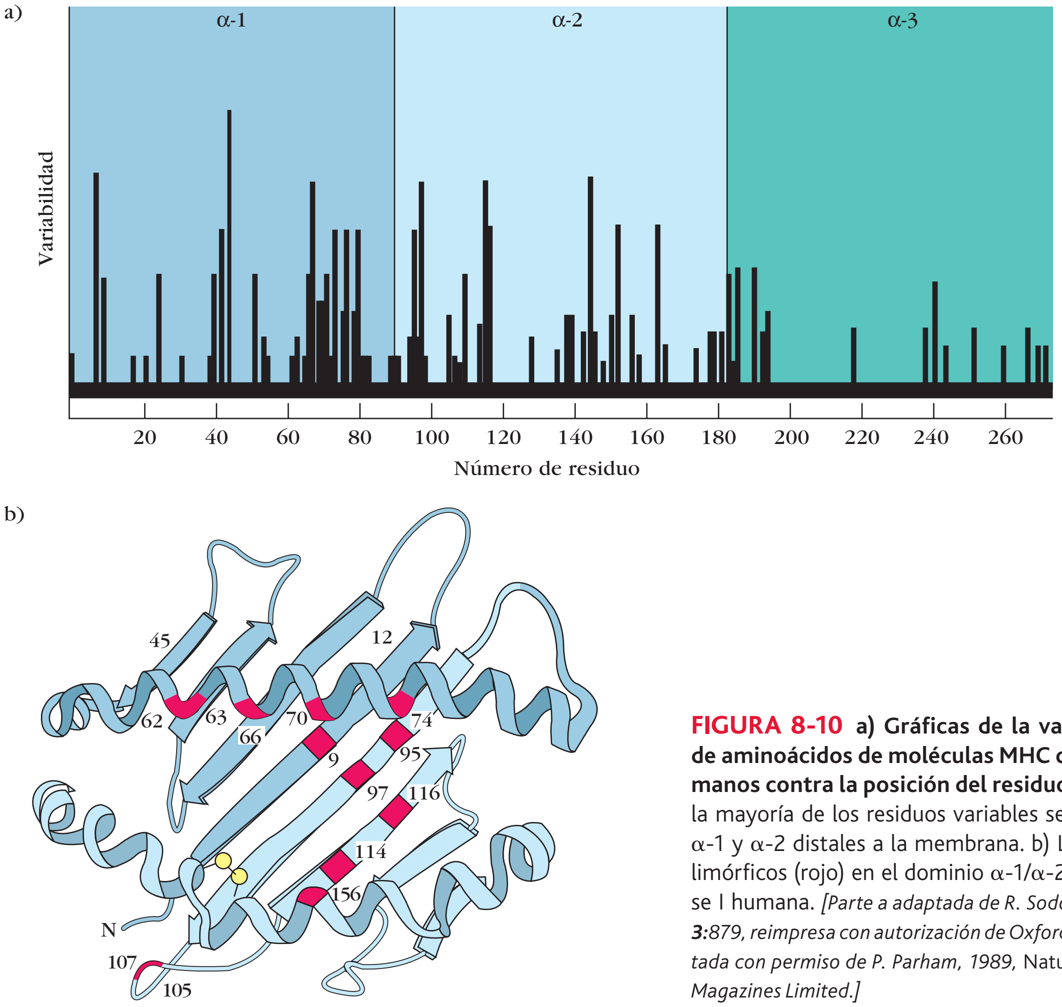


FIGURA 8-10 **a) Gráficas de la variabilidad en la secuencia de aminoácidos de moléculas MHC clase I alélicas en seres humanos contra la posición del residuo.** En los dominios externos, la mayoría de los residuos variables se encuentra en los dominios α-1 y α-2 distales a la membrana. b) Localización de residuos polimórficos (rojo) en el dominio α-1/α-2 de una molécula MHC clase I humana. *[Parte a adaptada de R. Sodoyer et al., 1984,* EMBO Journal ***3:****879, reimpresa con autorización de Oxford University Press; parte b adaptada con permiso de P. Parham, 1989,* Nature ***342:****617, © 1989 Macmillan Magazines Limited.]*

ciones de variación dentro de regiones altamente conservadas, lo cual sugiere que ha ocurrido conversión génica (cap. 5). El alto grado de diversidad entre los loci del MHC de diferentes individuos hace muy difícil encontrar tipos de MHC compatibles entre donante y receptor para trasplantes de órgano exitosos. Las consecuencias de este obstáculo mayor para el uso terapéutico de trasplantes se describen en el capítulo 17.

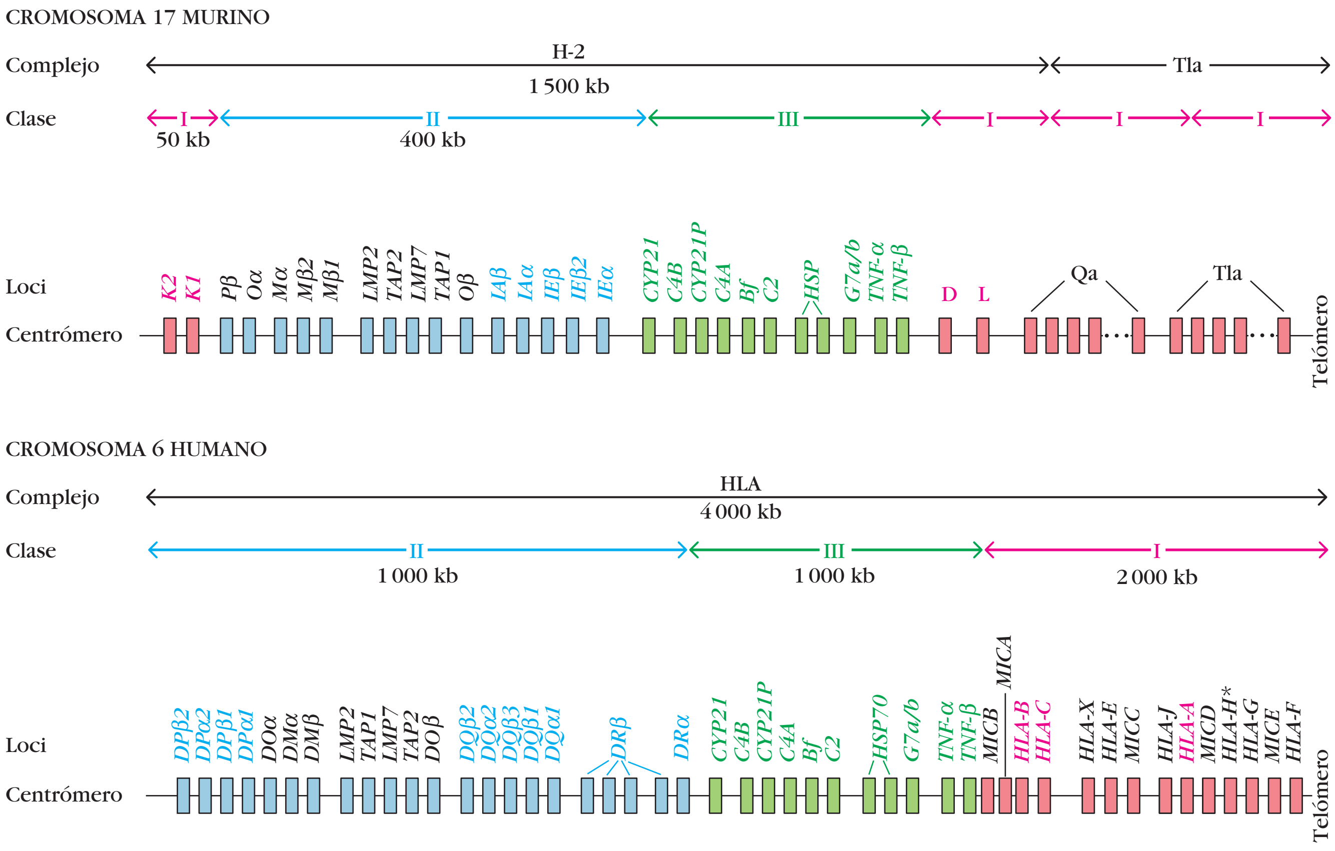
Importancia funcional del polimorfismo del MHC

La divergencia de secuencias entre alelos del MHC dentro de una especie es muy alta, tan considerable como la divergencia que se observa en los genes que codifican ciertas enzimas a través de especies. También tiene interés el hecho de que la variación de la secuencia entre moléculas MHC no se distribuye en forma aleatoria a lo largo de toda la cadena polipeptídica sino que, por el contrario, se agrupa en extensiones cortas, en gran parte dentro de los dominios α-1 y α-2 distales a la membrana de las moléculas clase I (fig. 8-10a). Se observan patrones similares de diversidad en los dominios α-1 y β-1 de las moléculas clase II.

Mediante comparaciones estructurales, los residuos polimórficos se han localizado dentro de la estructura tridimensional de los dominios distales a la membrana en moléculas MHC clase I y clase II, y han permitido relacionar diferencias alélicas con diferencias funcionales (fig. 8-10b). Por ejemplo, de 17 aminoácidos que con anterioridad se comprobó que mostraban polimorfismo importante en la molécula HLA-A2, mediante análisis cristalográfico con rayos X se demostró que 15 se hallaban en la hendidura de unión a péptido de esta molécula. La localización de estos aminoácidos polimórficos dentro del sitio de unión para antígeno procesado sugiere con firmeza que las diferencias alélicas contribuyen a las variaciones que se observan en la capacidad de las moléculas MHC de interactuar con un ligando peptídico dado.

Mapa genómico detallado de los genes MHC

El MHC abarca alrededor de 2 000 kb del DNA del ratón y unas 4 000 kb del DNA del ser humano. La secuencia del genoma humano recién completada muestra que esta región está empacada densamente con genes, que en su mayor parte tienen funciones conocidas. El conocimiento actual de la organización genómica de los genes MHC en el ratón y el ser humano se diagrama en la figura 8-11.


CROMOSOMA 17 MURINO
Complejo
H-2
1 500 kb
Tla
Clase
I
50 kb
II
400 kb
III
I
I
I
Loci
K2
K1
Pβ
Oα
Mα
Mβ2
Mβ1
LMP2
TAP2
LMP7
TAP1
Oβ
IAβ
IAα
IEβ
IEβ2
IEα
CYP21
C4B
CYP21P
C4A
Bf
C2
HSP
G7a/b
TNF-α
TNF-β
D
L
Qa
Tla
Centrómero
Telómero
CROMOSOMA 6 HUMANO
Complejo
HLA
4 000 kb
Clase
II
1 000 kb
III
1 000 kb
I
2 000 kb
Loci
DPβ2
DPα2
DPβ1
DPα1
DOα
DMα
DMβ
LMP2
TAP1
LMP7
TAP2
DOβ
DQβ2
DQα2
DQβ3
DQβ1
DQα1
DRβ
DRα
CYP21
C4B
CYP21P
C4A
Bf
C2
HSP70
G7a/b
TNF-α
TNF-β
MICB
MICA
HLA-B
HLA-C
HLA-X
HLA-E
MICC
HLA-J
HLA-A
MICD
HLA-H*
HLA-G
MICE
HLA-F
Centrómero
Telómero

*Actualmente designado HFE

CLAVE

Gen	Proteína codificada
C2, C4A, C4B, Bf	Componentes del complemento
CYP21, CYP21P	21-hidroxilasas de esteroide
G7a/b	Sintetasa de valil-tRNA
HSP	Proteína de golpe de calor
LMP2, LMP7	Subunidades parecidas a proteasoma
TAP1, TAP2	Subunidades péptido-transportador
TNF-α, TNF-β	Factores de necrosis tumoral α y β

FIGURA 8-11 Mapa genómico detallado del MHC murino y el humano; incluye los genes que codifican las moléculas MHC clásicas y no clásicas. Los genes MHC clase I se muestran en color rojo; los genes MHC II en azul, y los genes MHC III en verde. Los genes clase I clásicos están marcados en rojo, los clase II en azul y los genes MHC no clásicos en negro. El concepto de clásico y no clásico no se aplica a la clase III. Se conocen las funciones de ciertas proteínas codificadas por los genes clase I no clásicos. En el ratón hay genes no clásicos localizados corriente abajo de Tla que no se muestran.

La región de la clase I humana abarca alrededor de 2 000 kb en el extremo telomérico del complejo de antígenos de histocompatibilidad leucocitaria (HLA)

La región del MHC clase I humano tiene alrededor de 2 000 kb de largo e incluye cerca de 20 genes. El MHC clase I de los ratones consiste en dos regiones separadas por las regiones intermedias clase II y clase III. Dentro de la región clase I están incluidos los genes que codifican las moléculas MHC clase I clásicas bien caracterizadas que se designan HLA-A, HLA-B y HLA-C en el ser humano, y H-2K, H-2D y H-2L en ratones (los genes H-2L se encuentran sólo en determinados haplotipos murinos). Muchos genes clase I no clásicos, identificados mediante mapeo molecular, también se encuentran tanto en el MHC del ratón como en el humano. En ratones, los genes clase I no clásicos se localizan en tres regiones (*H-2Q, T* y *M*) corriente abajo del complejo H-2 (*M* no se muestra en la fig. 8-11). En el ser humano, los genes clase I no clásicos incluyen los loci *HLA-E, HLA-F, HLA-G, HFE, HLA-J* y *HLA-X* así como la familia de genes recién descubierta llamada *MIC,* que incluye de *MICA* a *MICE.* Algunos de los genes MHC clase I no clásicos son seudogenes y no codifican un producto proteínico, pero otros, como *HLA-G* y *HFE,* codifican productos similares a los de la clase I con funciones muy especializadas. La familia MIC de genes clase I sólo tiene 15 a 30% de identidad de secuencia con la clase I clásica, y los que se designan como MICA son muy polimórficos. Los productos del gen *MIC* se expresan a valores bajos en células epiteliales y son inducidos por calor u otros estímulos que influyen en las proteínas de golpe de calor.

Las funciones de las moléculas MHC clase I no clásicas aún se desconocen en gran medida, aunque algunos estudios sugieren que parte de estas moléculas, como las moléculas MHC clase I clásicas, pueden presentar péptidos a células T. Un dato intrigante consiste en que la molécula murina codificada por el locus *H-2M* es capaz de unir un péptido propio derivado de una subunidad de deshidrogenasa de NADH, una enzima codificada por el genoma mitocondrial. Este péptido propio particular contiene una metionina formilada amino terminal. Lo interesante de este dato es que los péptidos derivados de organismos procarióticos a menudo tienen residuos metionina formilados en la terminal amino. Esta molécula clase I codificada por *H-2M* puede ser singularmente adecuada para presentar péptidos de microorganismos procarióticos que son capaces de prosperar dentro de la célula. *Listeria monocytogenes* es uno de tales microorganismos, y las moléculas H-2m presentan péptidos de esta bacteria.

Los genes del MHC clase II se localizan en el extremo centromérico del HLA

La región MHC clase II contiene los genes que codifican las cadenas α y β de las moléculas MHC clase II clásicas designadas HLA-DR, DP y DQ en seres humanos, y H-2IA e IE en ratones. El mapeo molecular del MHC clase II reveló múltiples genes de cadena β en algunas regiones tanto de ratones como del ser humano, así como múltiples genes de cadena α en esta última especie (fig. 8-11). Por ejemplo, en la región DR humana hay tres o cuatro genes de cadena β funcionales. Todos los productos del gen de cadena β pueden expresarse junto con los productos del gen de cadena α en una célula determinada, lo que en consecuencia incrementa el número de diferentes moléculas presentadoras de antígeno en la célula. Aunque la región DR humana contiene sólo un gen de cadena α, las regiones DP y DQ contienen dos cada una.

Los genes que codifican moléculas MHC clase II no clásicas en el ser humano y en ratones también están identificados. En estos últimos varios genes clase II (*O*α, *O*β, *M*α y *M*β) codifican moléculas MHC no clásicas que muestran polimorfismo limitado y un patrón distinto de expresión que las moléculas clase II IA y IE clásicas. En la región clase II del ser humano se identifican genes no clásicos designados *DM* y *DO*. Los genes *DM* codifican una molécula similar a clase II (HLA-DM) que facilita la carga de péptidos antigénicos dentro de las moléculas MHC clase II. Se demostró que las moléculas DO clase II, que sólo se expresan en el timo y las células B maduras, sirven como reguladoras del procesamiento de antígeno clase II. Las funciones de HLA-DM y HLA-DO se describen más adelante.

Los genes del MHC clase III del ser humano están entre las clases I y II

La región clase III del MHC en el ser humano y en ratones contiene una colección heterogénea de genes (fig. 8-11). Estos genes codifican varios componentes del complemento, dos 21-hidroxilasas de esteroides, dos proteínas de golpe de calor y dos citocinas (TNF-α y TNF-β). Algunos de estos productos del gen MHC clase III desempeñan una función en ciertas enfermedades. Por ejemplo, las mutaciones en los genes que codifican 21-hidroxilasa suelen relacionarse con hiperplasia suprarrenal congénita. Como hecho interesante, la presencia de un grupo génico clase III enlazado se conserva en todas las especies con una región de MHC.

Expresión celular de moléculas MHC

En general, las moléculas MHC clase I clásicas se expresan en la mayor parte de las células nucleadas, pero el grado de expresión difiere entre los diferentes tipos celulares. Los valores más altos de moléculas clase I los expresan los linfocitos, en los que constituyen cerca de 1% del total de proteínas de la membrana plasmática, o alrededor de 5×10^5 por célula. En contraste, fibroblastos, células musculares, hepatocitos y células neurales expresan valores muy bajos de moléculas MHC clase I. El valor bajo en células hepáticas puede contribuir al éxito considerable de los trasplantes de hígado, al reducir la posibilidad de reconocimiento del injerto por T_C del receptor. Al parecer, unos cuantos tipos de células (p. ej., neuronas y células espermáticas en ciertas etapas de diferenciación) carecen en lo absoluto de moléculas MHC clase I.

Como ya se comentó, cualquier molécula MHC particular puede unir muchos péptidos diferentes. Como los alelos de MHC se expresan de manera codominante, un individuo heterocigoto expresa en sus células los productos génicos codificados por ambos alelos en cada locus del MHC. Por ejemplo, un ratón F_1 expresa K, D y L de cada progenitor (seis moléculas MHC clase I diferentes) en cada una de sus células nucleadas (fig. 8-12). Ocurre una situación similar en el ser humano; es

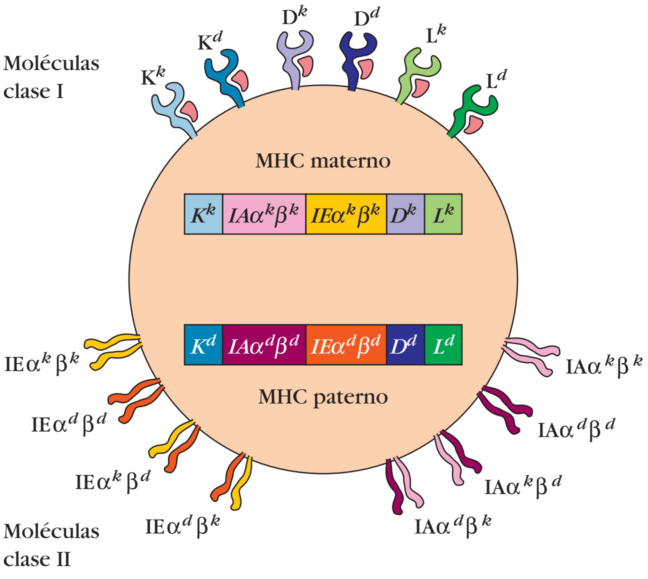


FIGURA 8-12 Diagrama que ilustra diversas moléculas MHC expresadas en células presentadoras de antígeno de un ratón heterocigoto H-2$^{k/d}$. Se expresan los genes del MHC tanto materno como paterno. Puesto que las moléculas clase II son heterodímeros, se producen moléculas heterólogas que contienen una cadena derivada de la madre y una derivada del padre. El componente de microglobulina β_2 de moléculas clase I (rosa) es codificado por un gen en un cromosoma separado y puede provenir de cualquier progenitor.

decir, un individuo heterocigoto expresa los alelos A, B y C de cada padre (seis moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad clase I diferentes) en la membrana de cada célula nucleada. La expresión de tantas moléculas MHC clase I permite que cada célula muestre un gran número de péptidos en las hendiduras de unión de péptido de sus moléculas MHC.

En células sanas normales, las moléculas clase I exhibirán péptidos propios que resultan del recambio normal de proteínas propias. En células infectadas por un virus se observarán tanto péptidos víricos como péptidos propios. Debe considerarse que una célula aislada infectada por un virus tiene varias moléculas clase I en su membrana, y que cada una muestra diferentes grupos de péptidos víricos. A causa de las distinciones alélicas individuales en las hendiduras de unión de péptido de las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad clase I, diferentes individuos dentro de una especie tendrán la capacidad de unir distintos grupos de péptidos víricos.

A diferencia de las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad clase I, las de clase II sólo son expresadas constitutivamente por células presentadoras de antígeno, sobre todo macrófagos, células dendríticas y células B; las células epiteliales tímicas y algunos otros tipos de células pueden inducirse para que expresen moléculas clase II y funcionen como células presentadoras de antígeno bajo ciertas condiciones y bajo la estimulación de algunas citocinas. Se observan diferencias notables en la expresión entre los diversos tipos de células que expresan moléculas MHC clase II. En algunos casos la expresión de la clase II depende de la etapa de diferenciación de las células. Por ejemplo, las moléculas clase II no pueden detectarse en células pre-B pero se expresan de manera constitutiva en la membrana de células B maduras. Asimismo, los monocitos y macrófagos sólo expresan valores bajos de moléculas clase II hasta que se activan por interacción con un antígeno, tras lo cual su grado de expresión aumenta significativamente.

Puesto que cada una de las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad clase II clásicas está constituida por dos cadenas polipeptídicas diferentes, que distintos loci codifican, un individuo heterocigoto expresa no sólo las moléculas clase II parentales, sino también moléculas que contienen cadenas α y β de diferentes cromosomas. No hay restricción sobre los orígenes genéticos de los pares de cadenas α y β que pueden expresarse juntas. Por ejemplo, un ratón H-2^k expresa moléculas clase II IA^k e IE^k; de manera similar, un ratón H-2^d expresa moléculas IA^d e IE^d. La progenie F_1 que resulta del cruzamiento de ratones con estos dos haplotipos expresa cuatro moléculas clase II parentales y cuatro moléculas que contienen la cadena α de un progenitor y la cadena β del otro (como se muestra en la fig. 8-12). Ya que el MHC humano contiene tres genes clase II clásicos (*DP, DQ* y *DR),* un individuo heterocigoto expresa seis moléculas clase II de los padres y seis moléculas que contienen combinaciones de cadena α y β de cada progenitor. El número de diferentes moléculas clase II que un individuo expresa se incrementa de modo adicional por la presencia de múltiples genes de cadena β en ratones y en el ser humano, y en este último por múltiples genes de cadena α. Es probable que la diversidad generada por estos mecanismos aumente el número de péptidos antigénicos diferentes que pueden presentarse y por tanto que sea ventajosa para el organismo.

Regulación de la expresión del MHC

La investigación de los mecanismos reguladores que controlan la expresión diferencial de genes MHC en distintos tipos de células aún se encuentra en su infancia, pero ya se sabe bastante. Se espera que la publicación del mapa genómico completo del complejo MHC acelere en grado considerable la identificación y la investigación de las secuencias codificadoras y reguladoras, y que conduzca a nuevas direcciones en la investigación de la forma en que se controla el sistema.

Tanto los genes MHC clase I como los de clase II tienen a los lados secuencias promotoras 5′, que unen factores de transcripción específicos de secuencia. Los elementos promotores y los factores de transcripción que se unen a estos motivos se han identificado en varios genes de MHC. La regulación transcripcional del MHC es mediada por elementos positivos y negativos. Por ejemplo, se demostró que un transactivador de MHC II, llamado *CIITA,* y otro factor de transcripción, denominado *RFX,* se unen a una región promotora de genes MHC clase II. Los defectos en estos factores de transcripción causan una forma del *síndrome de linfocitos desnudos* (véase el enfoque clínico más adelante). Los pacientes con este trastorno carecen de moléculas MHC clase II en sus células y como resultado sufren inmunodeficiencia grave que se debe a la función central de las moléculas MHC clase II en la maduración y activación de las células T.

La expresión de moléculas MHC también es regulada por varias citocinas. Se demostró que los interferones (α, β y γ) y el factor de necrosis tumoral incrementan la expresión de moléculas MHC clase I en las células. Por ejemplo, al parecer el interferón γ (IFN-γ) induce la formación de un factor de transcripción específico que se une a la secuencia promotora que se encuentra a los lados de los genes MHC clase I. Parece que la unión de este factor de transcripción a la secuencia promotora coordina el aumento de la transcripción de los genes que codifican la cadena α clase I, la microglobulina β_2 y otras proteínas implicadas en el procesamiento y la presentación de antígeno. Asimismo se demostró que el IFN-γ induce la expresión del activador de la transcripción clase II (CIITA) y en consecuencia incrementa de manera indirecta la expresión de moléculas MHC clase II en una diversidad de células, inclusive células no presentadoras de antígeno (p. ej., queratinocitos de la piel, células epiteliales intestinales, endotelio vascular, células placentarias y células β pancreáticas). Otras citocinas influyen en la expresión de MHC sólo en ciertos tipos celulares; por ejemplo, IL-4 aumenta la expresión de moléculas clase II por células B en reposo. El IFN-γ regula a la baja la expresión de moléculas clase II por células B; los corticosteroides y las prostaglandinas también disminuyen la expresión de moléculas clase II.

Las infecciones por ciertos virus, como citomegalovirus humano (CMV), virus de hepatitis B (HBV) y adenovirus 12 (Ad12), reducen la expresión de MHC en las superficies celulares. En algunos casos la menor expresión de moléculas MHC clase I en tales superficies se debe a la disminución de los valores de un componente necesario para el transporte de péptidos o el ensamblaje de MHC clase I más que para la transcripción. Por ejemplo, en la infección por citomegalovirus una proteína vírica se une a microglobulina β_2 e impide el ensamblaje de moléculas MHC clase I y su transporte a la membrana plasmática.

La infección por adenovirus 12 causa un decremento notable de la transcripción de los genes transportadores (*TAP1* y *TAP2*). Como se describe más adelante, los productos del gen TAP desempeñan una función importante en el transporte de péptidos del citoplasma al retículo endoplásmico rugoso. El bloqueo de la expresión del gen *TAP* inhibe el transporte de péptidos; como resultado las moléculas MHC clase I no pueden ensamblarse con microglobulina β o ser transportadas a la membrana celular. Es probable que el decremento de la expresión de moléculas MHC clase I, por cualquier mecanismo, ayude a que los virus evadan la reacción inmunitaria al disminuir la posibilidad de que las células infectadas por virus exhiban complejos MHC-péptido víricos y se constituyan en blancos para la destrucción mediada por linfocitos T citotóxicos (CTL). En el enfoque clínico de este capítulo se describe el modo en que las deficiencias de TAP intervienen en el síndrome de linfocitos desnudos.

MHC y susceptibilidad a enfermedades

Algunos alelos del HLA se observan con una frecuencia mucho más alta en quienes padecen determinadas enfermedades que en la población general. Las afecciones que se vinculan con alelos del MHC particulares incluyen trastornos autoinmunitarios, ciertas enfermedades víricas, trastornos del sistema de complemento, algunos trastornos neurológicos y diversas alergias. La relación entre alelos HLA y una enfermedad determinada puede cuantificarse mediante el establecimiento de la frecuencia de los alelos HLA expresados por individuos con la enfermedad y la comparación posterior de estos datos con la frecuencia de los mismos alelos en la población general. Esta comparación permite calcular el **riesgo relativo (RR):**

$$\mathrm{RR} = \frac{(Ag^{+}/Ag^{-})\ \text{grupo enfermo}}{(Ag^{+}/Ag^{-})\ \text{grupo testigo}}$$

Un valor de riesgo relativo de 1 significa que el alelo HLA se expresa con la misma frecuencia en el paciente y en las poblaciones generales, e indica que el alelo no confiere un mayor riesgo para la enfermedad. Un valor de riesgo relativo bastante mayor de 1 señala una relación entre el alelo HLA y la enfermedad. Por ejemplo, las personas con el alelo HLA-B27 tienen una posibilidad 90 veces mayor (riesgo relativo de 90) de desarrollar la enfermedad autoinmunitaria espondilitis anquilosante, una afección inflamatoria de las articulaciones vertebrales caracterizada por destrucción de cartílago, que los individuos que carecen de este alelo HLA-B. Otras vinculaciones con enfermedad que conllevan un riesgo relativo significativamente elevado son las de HLA-DR2 con narcolepsia (RR de 130) y hemocromatosis hereditaria con el haplotipo A3/B14 (RR de 90).

No debe interpretarse que la existencia de un vínculo entre un alelo de MHC y una enfermedad implica que la expresión del alelo causó la afección —la relación entre alelos de MHC y el desarrollo de la enfermedad es compleja—. Por ejemplo, en el caso de la espondilitis anquilosante se sugirió que a causa de la ligadura cercana de los genes TNF-α y TNF-β con el locus de HLA-B, es posible que estas citocinas participen en la destrucción de cartílago. Es probable que la relación de hemocromatosis con A3/B14 se deba a mutaciones en el gen HFE, que se vincula con estos genes clase I. El gen HFE codifica una proteína de membrana que participa en el metabolismo del hierro; su ausencia o disfunción causa la sobrecarga de hierro característica de la hemocromatosis.

Cuando las vinculaciones entre alelos de MHC y enfermedad son débiles, lo que se refleja en valores de riesgo relativo bajos, es probable que en la susceptibilidad influyan múltiples genes, de los que sólo uno está en el MHC. Se han estudiado a profundidad los orígenes genéticos de varias enfermedades autoinmunitarias, como esclerosis múltiple (vinculada con DR2, que conlleva un RR de 5) y artritis reumatoide (vinculada con DR4, RR de 10). Que estas enfermedades no se heredan por segregación mendeliana simple de alelos de MHC puede observarse en gemelos idénticos; ambos heredan el factor de riesgo de MHC, pero de ninguna manera existe la certeza de que ambos desarrollarán la enfermedad. Esta observación sugiere que múltiples factores genéticos y ambientales influyen en el desarrollo de la enfermedad, en especial afecciones autoinmunitarias, y que el MHC tiene una función importante pero no exclusiva. Una dificultad adicional en la relación de un producto de MHC particular con una enfermedad es el fenómeno genético de desequilibrio de ligadura, que se describió antes. El hecho de que algunos de los alelos MHC clase I se encuentren en desequilibrio de enlace con los alelos MHC clase II contribuye a que la susceptibilidad a la enfermedad parezca más prominente de lo que en realidad es. Por ejemplo, si DR4 contribuye al riesgo de una enfermedad y si ocurre con frecuencia en combinación con A3 por desequilibrio de ligadura, entonces parecería incorrecto vincular A3 con la enfermedad. Los avances en las técnicas de mapeo genómico hacen posible el análisis más completo de la ligadura entre MHC y varias enfermedades y la estimación de las contribuciones de otros loci.

Se cuenta con varias hipótesis para explicar la función del MHC en la susceptibilidad a enfermedades. Como se comentó, las diferencias alélicas pueden producir variantes en la respuesta inmunitaria que provienen de la variación en la capacidad de presentar antígeno procesado o la capacidad de las células T de reconocer el antígeno presentado. Las formas alélicas de genes MHC también pueden codificar moléculas que virus o toxinas bacterianas reconocen como receptores. Como se explica en el capítulo 15, el análisis genético de la enfermedad demanda considerar la posibilidad de que genes en múltiples loci puedan participar y de que quizá se requieran interacciones complejas entre ellos para desencadenar la enfermedad.

Algunas pruebas sugieren que una disminución del polimorfismo de MHC dentro de una especie podría predisponer a esta especie a enfermedades infecciosas. Los guepardos y algunos otros felinos silvestres, como las panteras de Florida, que se demostró son muy susceptibles a enfermedades víricas, tienen un polimorfismo de MHC muy limitado. Se postula que la población actual de guepardos (fig. 8-13) surgió de una población reproductora limitada, con la consecuente pérdida de la diversidad del MHC. La mayor susceptibilidad de los guepardos a diversas enfermedades víricas puede deberse a una reducción del número de diferentes moléculas MHC disponibles para la especie en conjunto y una limitación correspondiente en la

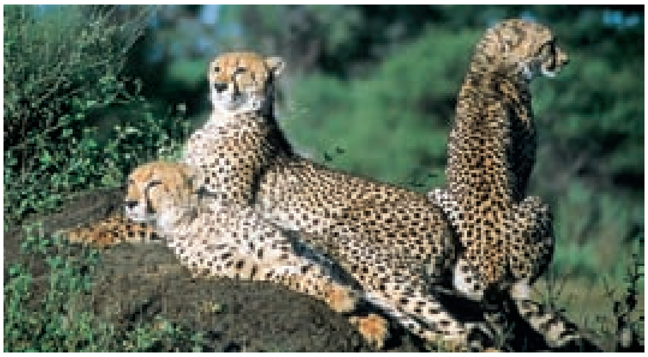


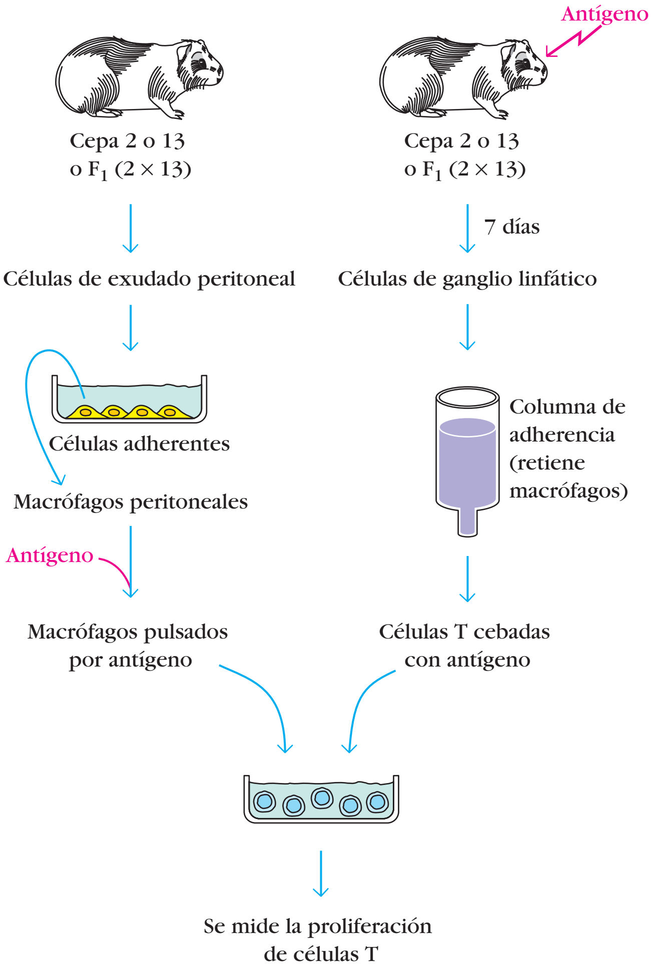
FIGURA 8-13 Guepardo hembra con dos cachorros casi del todo desarrollados. El polimorfismo en los genes MHC de los guepardos es muy limitado, tal vez por un cuello de botella en la reproducción que ocurrió en un pasado no muy distante. Se supone que todos los guepardos que viven en la actualidad son descendientes de una población reproductora muy pequeña. *[Fotografía tomada en el delta del Okavango, Botswana, por T. J. Kindt.]*

gama de antígenos procesados con que estas moléculas MHC pueden interactuar. Así, el alto grado de polimorfismo de MHC que se observa en diversas especies puede conferir la ventaja de una gama amplia de moléculas MHC presentadoras de antígeno. Aunque es probable que algunos individuos dentro de una especie no sean capaces de desarrollar una respuesta inmunitaria a cualquier patógeno determinado y en consecuencia son susceptibles a infección por él, el polimorfismo extremo asegura que cuando menos ciertos miembros de una especie tendrán la capacidad de reaccionar y serán resistentes. De este modo la diversidad de MHC al parecer protege a una especie de una gama amplia de enfermedades infecciosas.

MHC e inmunorreactividad

Los estudios iniciales de B. Benacerraf en los que se inmunizó a cobayos con antígenos sintéticos simples fueron los primeros en demostrar que la capacidad de un animal de montar una respuesta inmunitaria, según se mide por la producción de anticuerpos séricos, es determinada por su haplotipo de MHC. En experimentos posteriores, H. McDevitt, M. Sela y colaboradores recurrieron a cepas murinas congénicas y congénicas recombinantes para mapear el control de la *reactividad inmunitaria* a genes MHC clase II. En los primeros informes, los genes a cargo de este fenotipo se designaron *Ir* o genes de inmunorreacción; reteniendo la *I* inicial, los productos clase II del ratón se denominan IA e IE. En la actualidad se sabe que el hecho de que la inmunorreactividad dependa del MHC clase II refleja la participación central de las moléculas MHC clase II en la presentación de antígeno a células T_H.

Se han propuesto dos explicaciones de la variabilidad en la inmunorreactividad que se observa entre diferentes haplotipos. Según el *modelo de selección de determinantes*, las diferentes moléculas MHC clase II difieren en su capacidad de unir antígeno procesado. Según el *modelo de huecos en el repertorio*, alternativo, durante el procesamiento tímico pueden eliminarse células T portadoras de receptores que reconocen antígenos extraños muy parecidos a antígenos propios. Puesto que la reacción de la célula T a un antígeno incluye un complejo trimolecular de receptor de célula T, péptido antigénico y molécula MHC (lo que se expone en detalle en el capítulo 9), es posible que ambos modelos sean correctos. Es decir, el resultado de la


Antígeno
Cepa 2 o 13
o F_1 (2 × 13)
Cepa 2 o 13
o F_1 (2 × 13)
7 días
Células de exudado peritoneal
Células de ganglio linfático
Células adherentes
Columna de adherencia (retiene macrófagos)
Macrófagos peritoneales
Antígeno
Macrófagos pulsados por antígeno
Células T cebadas con antígeno
Se mide la proliferación de células T

Células T cebadas con antígeno	Macrófagos pulsados por antígeno		
	Cepa 2	Cepa 13	F_1 (2 × 13)
Cepa 2	+	–	+
Cepa 13	–	+	+
F_1 (2 × 13)	+	+	+

FIGURA 8-14 Demostración experimental de la restricción a MHC propio por células TH. Se incubaron células de exudado peritoneal de la cepa 2, la cepa 13 o F_1 (2 × 13) de cobayos en cajas de Petri de plástico para permitir el enriquecimiento de macrófagos, que son células adherentes. Luego los macrófagos peritoneales se incubaron con antígeno. Estos macrófagos "pulsados por antígeno" se incubaron in vitro con células T de cobayos de la cepa 2, la cepa 13 o F_1 (2 × 13) y se valoró el grado de proliferación de células T. Los resultados indicaron que las células T_H sólo pudieron proliferar en respuesta a antígeno presentado por macrófagos que compartían alelos MHC. *[Adaptada de A. Rosenthal y E. Shevach, 1974,* J. Exp. Med. ***138****:1194, con autorización de Rockefeller University Press.]*

ausencia de una molécula MHC que puede unir y presentar un péptido determinado o la ausencia de receptores de célula T que pueden reconocer un complejo péptido-molécula MHC podría ser falta de inmunorreactividad y de ese modo explicar la relación observada entre el haplotipo de MHC y respuesta inmunitaria a antígenos exógenos.

Restricción de células T a MHC propio

En el decenio de 1970 se realizó una serie de experimentos para explorar con más detalle la relación entre MHC e inmunoreacción. Estas investigaciones demostraron que tanto las células T CD4$^+$ como las CD8$^+$ son capaces de reconocer antígeno sólo cuando éste es presentado por una molécula MHC propia, lo que se denomina restricción a MHC propio. A. Rosenthal y E. Shevach demostraron que la proliferación de células T_H específicas de antígeno sólo ocurre en respuesta a antígeno presentado por macrófagos del mismo haplotipo de MHC que las células T. En su sistema experimental incubaron primero macrófagos de cobayo de la cepa 2 con un antígeno. Después de que los macrófagos "pulsados por antígeno" procesaron el antígeno y lo presentaron en su superficie, se les mezcló con células T de la misma cepa (cepa 2), una cepa diferente (cepa 13) o animales F_1 (2 × 13) y se midió la magnitud de la proliferación de células T en respuesta a macrófagos pulsados por antígeno.

Los resultados de estos experimentos, que se delinean en la figura 8-14, mostraron que los macrófagos de la cepa 2 pulsados por antígeno activaron células T de la cepa 2 y de F_1 pero no células T de la cepa 13. De modo similar, los macrófagos de la cepa 13 pulsados por antígeno activaron células T de la cepa 13 y de F_1 pero no células T de la cepa 2. En seguida cepas congénicas y congénicas recombinantes de ratón, que diferían entre sí sólo en regiones seleccionadas del complejo H-2, se utilizaron como fuente de macrófagos y células T. Estos experimentos confirmaron que la célula T_H CD4$^+$ se activa y prolifera sólo en presencia de macrófagos pulsados por antígeno que comparten alelos de MHC clase II. De este modo, el reconocimiento de antígeno por la célula T_H CD4$^+$ es *restringido a MHC clase II.*

En 1974, Zinkernagel y Doherty demostraron la restricción de células T CD8$^+$ a MHC propio. En sus experimentos inmunizaron ratones con virus de coriomeningitis linfocítica (LCM); varios días después aislaron e incubaron células esplénicas, que incluyeron células T_C específicas para el virus, con células blanco infectadas por LCM de haplotipo igual o diferente (fig. 8-15). Encontraron que las células T_C sólo destruían células blanco singénicas infectadas por virus. Estudios posteriores con cepas congénicas y congénicas recombinantes mostraron que la célula T_C y la célula blanco infectada con virus deben compartir moléculas de clase I codificadas por las regiones K o D del MHC. En consecuencia, el reconocimiento de antígeno por células T_C CD8$^+$ es *restringido a MHC clase I.* En 1996, Doherty y Zinkernagel recibieron el premio Nobel por su importante contribución al conocimiento de la inmunidad mediada por células.

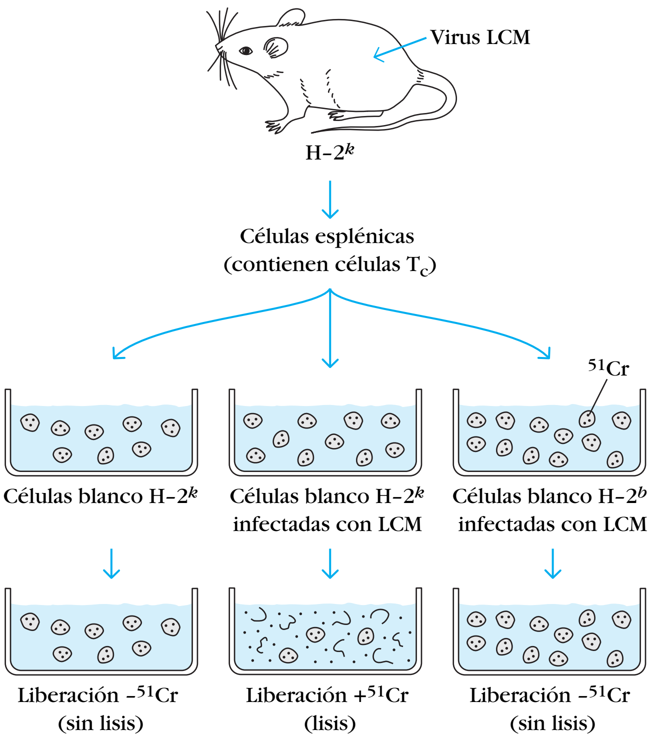

Virus LCM
H-2^k
Células esplénicas (contienen células T_C)
^{51}Cr
Células blanco H-2^k
Células blanco H-2^k infectadas con LCM
Células blanco H-2^b infectadas con LCM
Liberación −^{51}Cr (sin lisis)
Liberación +^{51}Cr (lisis)
Liberación −^{51}Cr (sin lisis)

FIGURA 8-15 Experimento clásico de Zinkernagel y Doherty que demuestra que el reconocimiento de antígeno por células T_C exhibe restricción de MHC. Ratones H-2^k se cebaron con virus de la coriomeningitis linfocítica (LCM) para inducir linfocitos T citotóxicos (CTL) específicos para el virus. Las células esplénicas de este ratón cebado con LCM se añadieron después a células blanco de diferentes haplotipos H-2 que se marcaron intracelularmente con ^{51}Cr (puntos negros) y se infectaron o no con el virus LCM. La destrucción de las células blanco mediada por CTL, valorada por la liberación de ^{51}Cr hacia el sobrenadante del cultivo, sólo ocurrió cuando las células blanco se infectaron con LCM y tuvieron los mismos haplotipos de MHC que los CTL. *[Adaptada de P. C. Doherty y R. M. Zinkernagel, 1975,* Journal of Experimental Medicine ***141****:502.]*

Función de las células presentadoras de antígeno

Ya en 1959 los inmunólogos se encontraron con datos que sugerían que las células T y las células B reconocían antígeno por diferentes mecanismos. El dogma de ese tiempo, que persistió hasta el decenio de 1980, era que las células del sistema inmunitario reconocían la proteína completa en su conformación natural. Sin embargo, experimentos realizados por P. G. H. Gell y Benacerraf demostraron que, si bien una proteína en su conformación natural inducía una respuesta de anticuerpo primaria y una respuesta mediada por células, la respuesta de anticuerpo secundaria (mediada por células B) sólo podía ser inducida por antígeno natural, en tanto que una respuesta secundaria mediada por células podía ser inducida por proteína nativa (natural) o desnaturalizada. Estas observaciones se consideraron como un enigma interesante, pero las implicaciones para la presentación de antígeno se pasaron por completo por alto hasta el inicio del decenio de 1980.

Es necesario que el antígeno sea procesado para que las células T lo reconozcan

Los resultados obtenidos por K. Ziegler y E. R. Unanue fueron algunos de los que contradijeron el dogma prevaleciente de que el reconocimiento de antígeno por células B y T era básicamente similar. Estos investigadores observaron que la activación de células T_H por antígenos proteínicos bacterianos se impedía mediante el tratamiento de las células presentadoras de antígeno con paraformaldehído antes de la exposición al antígeno. Sin embargo, si se permitía que las células presentadoras de antígeno ingirieran primero el antígeno y se fijaban con paraformaldehído 1 a 3 h después, ocurría activación de las células T_H (fig. 8-16a, b). Durante el intervalo de 1 a 3 h, las células presentadoras de antígeno procesaron el antígeno y lo exhibieron en la membrana en una forma capaz de activar células T.

Experimentos ulteriores efectuados por R. P. Shimonkevitz mostraron que la internalización y el procesamiento podían evitarse si las células presentadoras de antígeno se exponían a péptidos resultantes de la digestión de un antígeno en lugar del antígeno natural (fig. 8-16c). En estos experimentos las células presentadoras de antígeno se trataron con glutaraldehído (esta sustancia química, como el paraformaldehído, fija la célula y desactiva su metabolismo) y después se incubaron con ovalbúmina natural o con ovalbúmina que había sido sometida a digestión enzimática parcial. La ovalbúmina digerida fue capaz de interactuar con las células presentadoras de antígeno fijadas con glutaraldehído y en consecuencia activar células T_H específicas de ovalbúmina, en tanto que la ovalbúmina natural no lo hizo. Estos resultados sugirieron que el procesamiento de antígeno incluye la digestión de la proteína en péptidos que las células T_H específicas de ovalbúmina reconocen.

Casi al mismo tiempo varios investigadores, como W. Gerhard, A. Townsend y sus colaboradores comenzaron a identificar que las células T_C reconocían las proteínas del virus de la gripe. Contrariamente a sus expectativas, encontraron que a menudo las células T_C reconocían mejor las proteínas internas del virus, como las proteínas de matriz y de nucleocápside, que las proteínas de envoltura, más expuestas. Más aún, el trabajo de Townsend reveló que las células T_C reconocían secuencias peptídicas lineales cortas de la proteína de la gripe. De hecho, cuando incubaron in vitro células blanco no infectadas con péptidos sintéticos que correspondían a las secuencias de las proteínas internas de la gripe, las células T_C reconocieron estas células y después las lisaron tan bien como las células blanco infectadas con virus de la gripe vivos. Estos datos, aunados a los que se presentan en la figura 8-16, sugieren que el procesamiento de antígenos es un proceso metabólico que digiere proteínas

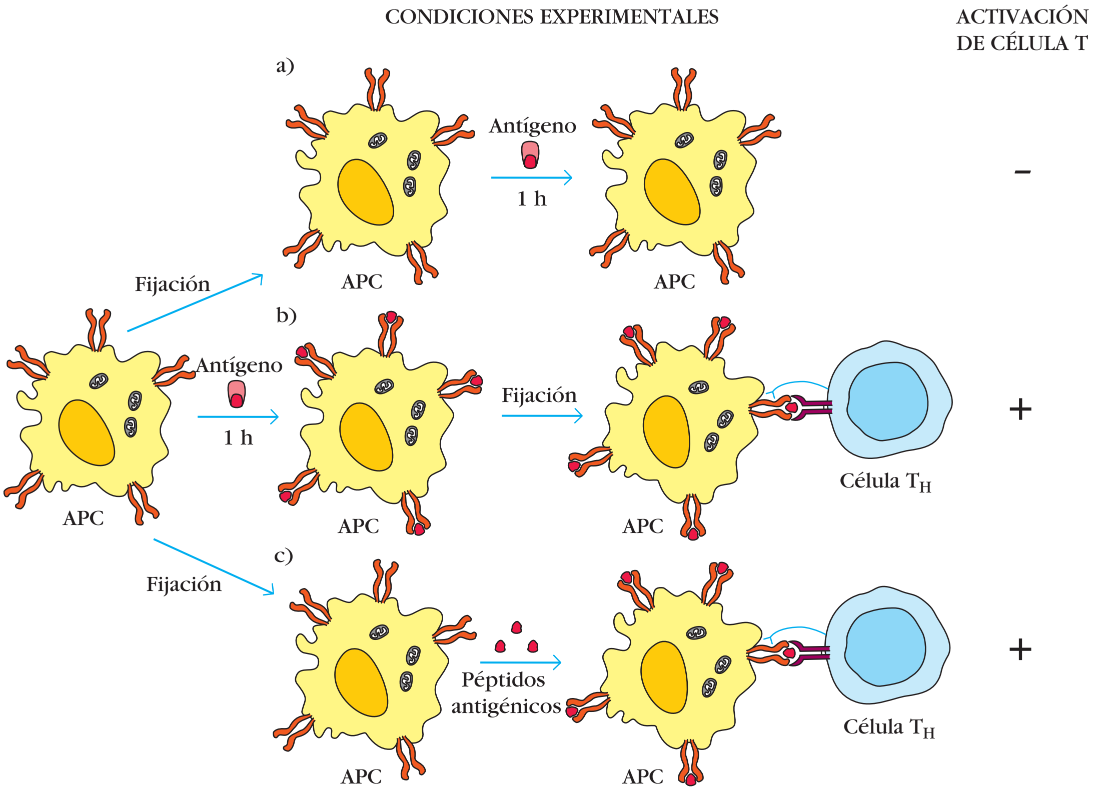


FIGURA 8-16 Demostración experimental de la necesidad del procesamiento de antígeno para la activación de células T_H. a) Cuando las células presentadoras de antígeno (APC) se fijan antes de exponerse a antígeno no son capaces de activar células T_H. b) En contraste, las APC que se fijan cuando menos 1 h después de exponerse a antígeno pueden activar células T_H. (En esta figura, simplificada, no se muestran las moléculas coestimuladoras necesarias para la activación de las células T.) c) Cuando las APC se fijan antes de exponerse a antígeno y se incuban con productos de la digestión de péptidos del antígeno (en lugar del antígeno natural) también pueden activar células T_H. La activación de estas últimas se determina al medir una respuesta específica de células T_H (p. ej., la secreción de citocinas).

en péptidos, que luego pueden presentarse en la membrana celular junto con una molécula MHC clase I o clase II.

La mayoría de las células puede presentar antígeno con MHC clase I; la presentación con MHC clase II se restringe a células presentadoras de antígeno (APC)

Puesto que todas las células que expresan moléculas MHC clase I y clase II pueden presentar péptidos a las células T, en sentido estricto todas podrían denominarse células presentadoras de antígeno. Sin embargo, por convención, las células que muestran péptidos unidos a moléculas MHC clase I a las células T_C $CD8^+$ se designan *células blanco*; las células que muestran péptidos unidos a moléculas MHC clase II a las células T_H $CD4^+$ se conocen como **células presentadoras de antígeno (APC)**. Tal convencionalismo se sigue a lo largo de este texto. Debe señalarse que en algunos casos las APC también presentan antígeno en el contexto de las moléculas MHC clase I.

Diversas células pueden funcionar como células presentadoras de antígeno. Su característica distintiva es la capacidad de expresar moléculas MHC clase II y llevar una señal coestimuladora. Tres tipos de células se clasifican como células presentadoras de antígeno *profesionales:* dendríticas, macrófagos y linfocitos B. Estas células difieren entre sí en su mecanismo de captación del antígeno, en sí expresan o no constitutivamente moléculas MHC clase II y en su actividad coestimuladora:

- Las dendríticas son las más eficaces de las células presentadoras de antígeno. Como estas células expresan de manera constitutiva un nivel alto de moléculas MHC clase II y actividad coestimuladora, pueden activar células T_H naturales.
- Los macrófagos deben ser activados por fagocitosis de antígenos particulados antes que expresen moléculas MHC clase II o de membrana coestimuladoras como la B7.
- Las células B expresan en forma constitutiva moléculas MHC clase II, pero deben ser activadas antes de expresar moléculas coestimuladoras.

Varios otros tipos de células, que se clasifican como células presentadoras de antígeno *no profesionales*, pueden ser inducidas a expresar moléculas MHC clase II o una señal coestimuladora (cuadro 8-3). Muchas de estas células sólo funcionan en la presentación de antígeno por períodos cortos durante una respuesta inflamatoria sostenida.

CUADRO 8-3 Células presentadoras de antígeno

Células presentadoras de antígeno profesionales	Células presentadoras de antígeno no profesionales	
Células dendríticas (varios tipos)	Fibroblastos (piel)	Células epiteliales tímicas
Macrófagos	Células gliales (cerebro)	Células epiteliales tiroideas
Células B	Células β pancreáticas	Células endoteliales vasculares

Ya que casi todas las células nucleadas expresan moléculas MHC clase I, virtualmente cualquier célula nucleada es capaz de funcionar como una célula blanco que presenta antígenos endógenos a las células T_C. Con mayor frecuencia las células blanco son células infectadas por un virus o algún otro microorganismo intracelular. Sin embargo, las células propias alteradas, como las de cáncer, las del cuerpo en envejecimiento o las alogénicas de un injerto también pueden servir como blancos.

Pruebas de la existencia de diferentes vías de procesamiento y presentación de antígeno

El sistema inmunitario utiliza dos vías distintas para eliminar antígenos intracelulares y extracelulares. Como regla general, los antígenos endógenos (los que se generan dentro de la célula) se procesan en la *vía citosólica* y se presentan en la membrana con moléculas MHC clase I; los antígenos exógenos (los que se captan por endocitosis) se procesan en la *vía endocítica* y se presentan en la membrana con moléculas MHC clase II (fig. 8-17).

Experimentos realizados por L. A. Morrison y T. J. Braciale proporcionaron las pruebas iniciales de que los péptidos presentados por moléculas MHC clase I y clase II se derivan de diferentes vías de procesamiento. Utilizando una clona de células T_C que reconocía un antígeno del virus de la gripe (HA) unido a una molécula MHC clase I y otra clona de células T que reconocía el mismo antígeno vírico unido a una molécula MHC clase II, dedujeron principios generales acerca de las dos vías:

- Para la presentación clase I se requiere la síntesis de proteína vírica, como lo demuestran el requerimiento de que la célula blanco sea infectada por virus vivos y la inhibición de la presentación clase I por un inhibidor (emetina) de la síntesis vírica.
- La presentación clase II ocurre tanto con virus vivos como con virus incompetentes para la multiplicación; los inhibidores de la síntesis proteínica no tuvieron efecto, lo cual indica que la síntesis de proteína nueva no es una condición necesaria para la presentación clase II.
- La presentación clase II (pero no la clase I) es inhibida por el tratamiento de las células con un agente (cloroquina) que bloquee el procesamiento endocítico dentro de la célula.

Estos resultados apoyan la distinción entre el procesamiento de antígenos exógenos y endógenos, inclusive la unión preferencial de antígenos exógenos a moléculas MHC clase II y de antígenos endógenos a moléculas MHC clase I. La unión de antígeno vírico a moléculas MHC clase I requirió la multiplicación del virus de la gripe y la síntesis de proteínas víricas dentro de las células blanco, pero ello no fue necesario para la unión a la clase II. Estos resultados sugirieron que los péptidos presentados por moléculas MHC clase I y clase II se transportan a través de compartimientos intracelulares distintos; las moléculas MHC clase I interactúan con péptidos derivados de la degradación citosólica de proteínas sintetizadas de manera endógena, mientras que las moléculas de clase II lo hacen con péptidos que provienen de la degradación endocítica de antígenos exógenos. En las dos secciones siguientes se examinan con detalle estas dos vías.

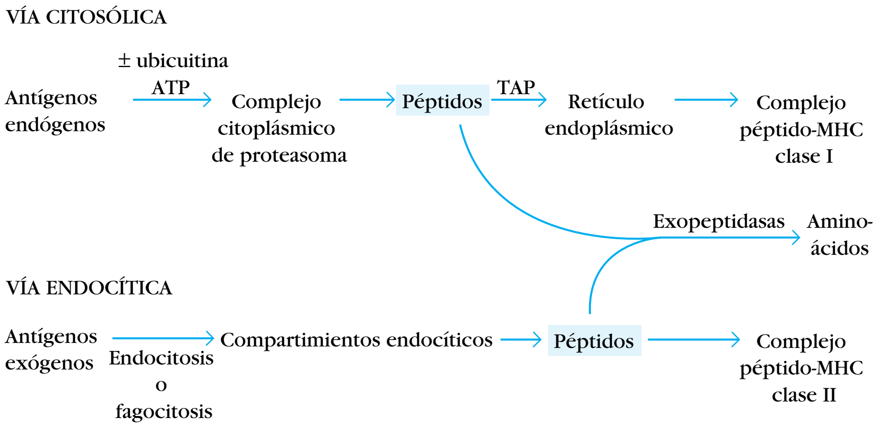

VÍA CITOSÓLICA
± ubicuitina
ATP
Antígenos endógenos
Complejo citoplásmico de proteasoma
Péptidos
TAP
Retículo endoplásmico
Complejo péptido-MHC clase I
Exopeptidasas
Amino-ácidos
VÍA ENDOCÍTICA
Antígenos exógenos
Endocitosis o fagocitosis
Compartimientos endocíticos
Péptidos
Complejo péptido-MHC clase II

FIGURA 8-17 Generalidades de las vías citosólica y endocítica para el procesamiento de antígeno. El complejo proteasoma contiene enzimas que rompen enlaces peptídicos y convierten proteínas en péptidos. Los péptidos antigénicos provenientes de la escisión por proteasoma y los de compartimientos endocíticos se unen con moléculas MHC clase I y clase II, y después los complejos péptido-MHC son transportados a la membrana celular. El TAP (transportador relacionado con procesamiento de antígeno) transporta los péptidos al retículo endoplásmico. Cabe señalar que el destino final de la mayor parte de los péptidos en la célula no es ninguna de estas vías, sino más bien su degradación completa en aminoácidos.

Antígenos endógenos: vía citosólica

Las concentraciones de proteínas se regulan de manera cuidadosa en las células eucariotas. Cada proteína está sujeta a un recambio continuo y se degrada a un ritmo que suele expresarse en términos de su vida media. Algunas proteínas (p. ej., factores de transcripción, ciclinas y enzimas metabólicas fundamentales) tienen vidas medias muy cortas; las proteínas desnaturalizadas, plegadas de modo erróneo o con otras anormalidades también se degradan con rapidez. Los productos ribosómicos defectuosos, o DRiP, son polipéptidos sintetizados con imperfecciones que constituyen una gran proporción de los productos que se degradan con rapidez. La vida promedio de las proteínas celulares es de unos dos días, pero muchas se degradan en un lapso de 10 minutos. La consecuencia del recambio continuo tanto de proteínas normales como de defectuosas es un torrente de productos de degradación en el interior de la célula. La mayoría serán degradados a sus aminoácidos constituyentes, pero algunos persisten como péptidos en el citosol, y el sistema inmunitario muestrea éstos y presenta algunos en la superficie de la célula en relación con moléculas MHC clase I. La vía por la cual se degradan péptidos endógenos para su presentación con moléculas MHC clase I utiliza mecanismos similares a los que participan en el recambio normal de proteínas intracelulares,

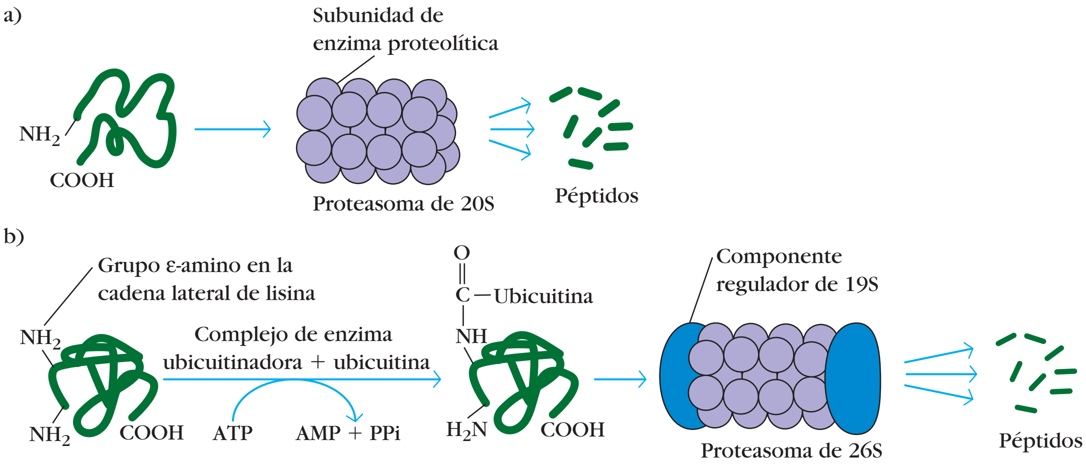

a)
Subunidad de enzima proteolítica
NH₂
COOH
Proteasoma de 20S
Péptidos
b)
Grupo ε-amino en la cadena lateral de lisina
NH₂
NH₂
COOH
Complejo de enzima ubicuitinadora + ubicuitina
ATP
AMP + PPi
O
C—Ubicuitina
NH
H₂N
COOH
Componente regulador de 19S
Proteasoma de 26S
Péptidos

FIGURA 8-18 Sistema proteolítico citosólico para la degradación de proteínas intracelulares. a) La degradación de proteínas plegadas incorrectamente y productos ribosómicos defectuosos ocurre dentro del conducto central del proteasoma y genera una variedad de péptidos. El proteasoma de 20S es una partícula cilíndrica larga cuyas subunidades catalizan la rotura de enlaces peptídicos. b) Las proteínas intactas por degradar se unen de modo covalente a una pequeña proteína llamada ubicuitina. En esta reacción, que requiere ATP, un complejo enzimático enlaza varias moléculas de ubicuitina con el grupo ϵ-amino de un residuo lisina cerca del extremo amino terminal de la proteína. Las proteínas ubicuitinadas son enviadas para su degradación por el proteasoma de 26S, que consiste en el proteasoma de 20S y un componente regulador de 19S capaz de unirse a los extremos de la unidad de 20S.

pero sigue siendo incierto el modo en que se seleccionan péptidos específicos.

Complejos de proteasa llamados proteasomas generan los péptidos para presentación

Las proteínas intracelulares son degradadas a péptidos cortos mediante un sistema citosólico proteolítico presente en todas las células, llamado en conjunto proteasoma (fig. 8-18a). El proteasoma grande (20S) está constituido por 14 subunidades dispuestas en una estructura con forma de barril formada por anillos simétricos. Sólo algunas de las subunidades tienen actividad de proteasa. El ingreso al proteasoma ocurre a través de estrechos conductos en cada extremo.

Muchas proteínas marcadas para proteólisis tienen una proteína pequeña, llamada *ubicuitina*, unida a ellas (fig. 8-18b). Los conjugados de ubicuitina y proteína pueden ser degradados por un complejo de proteasa multifuncional que consiste en un proteasoma de 20S al cual se agrega un componente regulador de 19S. El proteasoma de 26S resultante rompe enlaces peptídicos en un proceso dependiente de ATP (fig. 8-18b). Se piensa que la degradación de complejos de ubicuitina y proteína ocurre dentro del hueco central del proteasoma.

Pruebas experimentales indican que el sistema inmunitario usa esta vía general de degradación de proteínas a fin de producir péptidos pequeños para presentación con moléculas MHC clase I. Además de los proteasomas de 20S ordinarios que residen en todas las células, en las células con actividad inmunitaria está presente un proteasoma bien definido del mismo tamaño. Este inmunoproteasoma, que puede ser inducido por interferón γ o TNF-α, se encuentra en células infectadas por virus, lo cual sugiere que podría participar en el procesamiento de proteínas víricas para la presentación clase I. El inmunoproteasoma se recambia más rápidamente que los proteasomas ordinarios, debido tal vez a que el mayor nivel de degradación de proteínas en su presencia puede tener consecuencias más allá de marcar células infectadas por virus. Es posible que la autoinmunidad se deba a un mayor procesamiento de proteínas propias en células con altas concentraciones de inmunoproteasomas.

Los péptidos se transportan del citosol al retículo endoplásmico rugoso

La información respecto al papel del transporte de péptidos (la liberación de péptidos a la molécula MHC) en la vía citosólica de procesamiento proviene de estudios de líneas celulares con defectos en la presentación de péptidos por moléculas MHC clase I. Una de estas líneas celulares mutantes, llamada RMA-S, expresa alrededor de 5% de los valores normales de moléculas MHC clase I en su membrana. Aunque las células RMA-S sintetizan concentraciones normales de cadenas α clase I y microglobulina β_2, en la membrana se encuentran pocos complejos con MHC clase I. Un indicio de la mutación en la línea celular RMA-S fue el descubrimiento de Townsend y sus colaboradores de que la “alimentación” de estas células con péptidos normalizó su concentración de moléculas MHC clase I relacionadas con la membrana. Estos investigadores sugirieron que podrían requerirse péptidos para estabilizar la interacción entre la cadena α clase I y la microglobulina β_2. La capacidad de restablecer la expresión de moléculas MHC clase I en la membrana mediante alimentación de las células con péptidos predigeridos sugirió que tal vez la línea de células RMA-S tuviera un defecto en el transporte de péptidos.

Experimentos subsecuentes demostraron que el defecto en la línea de células RMA-S ocurre en la proteína que transporta péptidos del citoplasma al retículo endoplásmico rugoso (RER), donde se sintetizan las moléculas clase I. Cuando células RMA-S se transfectaron con un gen funcional que codificaba la proteína transportadora, las células comenzaron a expresar moléculas clase I en la membrana. La proteína transportadora, designada **TAP** (por **transportador relacionado con procesamiento de antígenos**) es un heterodímero que abarca una membrana constituida por dos proteínas: TAP1 y TAP2 (fig. 8-19a).

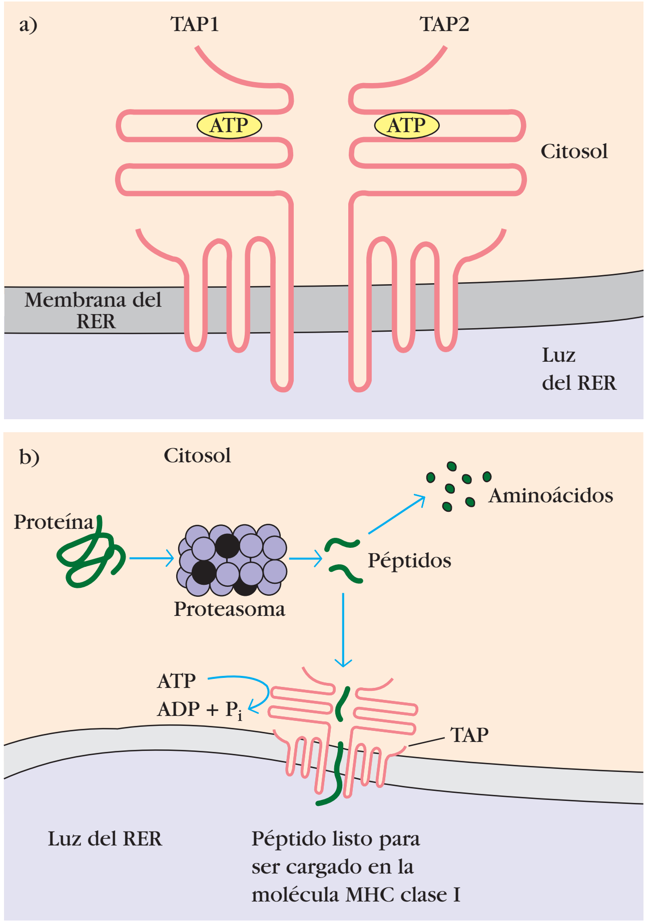


FIGURA 8-19 TAP (transportador relacionado con procesamiento de antígeno). a) Diagrama esquemático del TAP, un heterodímero anclado a la membrana del retículo endoplásmico rugoso (RER). Las dos cadenas son codificadas por *TAP1* y *TAP2*. El dominio citosólico en cada subunidad de TAP contiene un sitio de unión de ATP, y el transporte del péptido depende de la hidrólisis de ATP. b) En el citosol, la unión de LMP2, LMP7 y LMP10 (esferas negras) con un proteasoma cambia su especificidad catalítica a favor de la producción de péptidos que se unen a moléculas MHC clase I. Estos péptidos son transpuestos por el TAP a la luz del RER, donde, en un proceso mediado por varias otras proteínas, se unirán a moléculas MHC clase I.

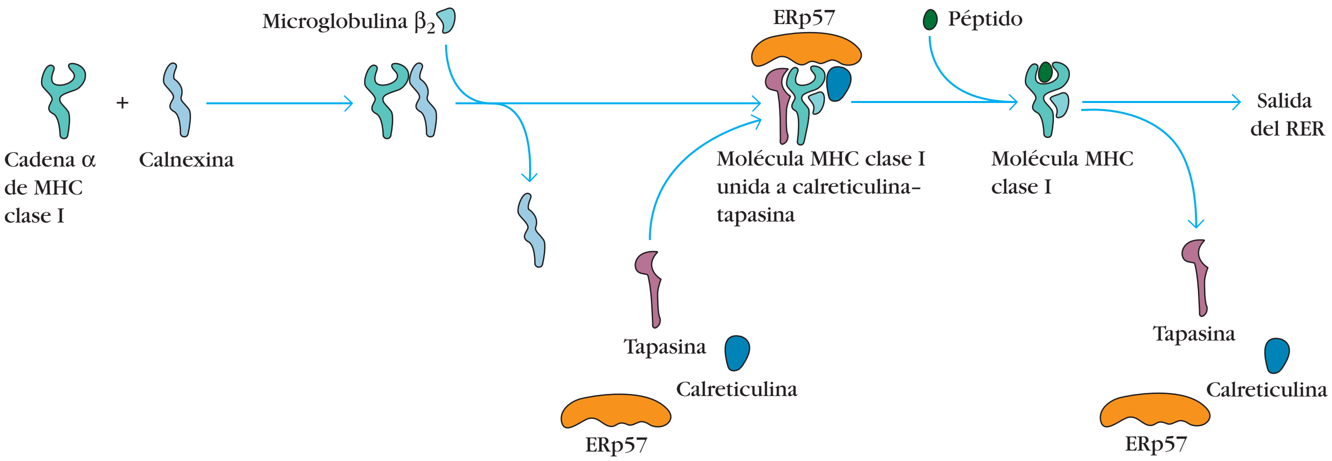


FIGURA 8-20 Ensamblaje y estabilización de moléculas MHC clase I. Dentro de la membrana del RER, una cadena α clase I recién sintetizada se une con calnexina, una carabina ("chaperona" o acompañante) molecular, hasta que a la cadena α se une microglobulina β_2. La unión a microglobulina β_2 libera la calnexina y permite la unión a la chaperonina calreticulina y a tapasina, que se une al transportador de péptido TAP. Este vínculo promueve la unión de un péptido antigénico, que estabiliza el complejo molécula clase I-péptido y permite que se libere del RER.

Además de sus múltiples segmentos transmembranales, las proteínas TAP1 y TAP2 tienen un dominio que se proyecta a la luz del RER, y un dominio de unión de ATP que se proyecta al citosol. Tanto TAP1 como TAP2 pertenecen a la familia de proteínas del chasis (o estuche) de unión de ATP que se encuentra en la membrana de muchas células, inclusive bacterianas; estas proteínas median el transporte de aminoácidos, azúcares, iones y péptidos dependiente de ATP.

Los péptidos que el proteasoma genera en el citosol son transpuestos por TAP hacia el RER mediante un proceso que requiere la hidrólisis de ATP (fig. 8-19b). El TAP tiene afinidad por péptidos que contienen ocho a 16 aminoácidos. La longitud óptima de los péptidos para la unión a MHC clase I es de alrededor de nueve aminoácidos, y esta longitud se logra por recorte con aminopeptidasas presentes en el ER, como la ERAP. Además, al parecer, el TAP favorece péptidos con aminoácidos hidrófobos o básicos en el extremo carboxilo, los residuos de fijación preferidos para las moléculas MHC clase I. Por consiguiente, el TAP es optimizado para transportar péptidos que interactuarán con moléculas MHC clase I.

Los genes *TAP1* y *TAP2* se mapean dentro de la región de MHC clase II, adyacentes a los genes *LMP2* y *LMP7* (fig. 8-11), y en la población existen diferentes formas alélicas de estos genes. Las deficiencias de TAP pueden ocasionar un síndrome que tiene aspectos tanto de inmunodeficiencia como de autoinmunidad (véase el enfoque clínico).

Los péptidos se ensamblan con MHC clase I auxiliados por carabinas moleculares

Como otras proteínas, los componentes de la cadena α y de la microglobulina β_2 de la molécula MHC clase I se sintetizan en polisomas a lo largo del retículo endoplásmico rugoso. El ensamblaje de estos componentes en un complejo molecular de MHC clase I estable que puede salir del RER requiere la presencia de un péptido en la hendidura de unión de la molécula clase I. El proceso de ensamblaje comprende varias etapas e incluye la participación de *carabinas moleculares*, que facilitan el plegamiento de polipéptidos. La primera carabina molecular que participa en el ensamblaje de MHC clase I es la *calnexina*, una proteína residente de la membrana del retículo endoplásmico. La calnexina se vincula con la cadena α clase I libre y promueve su plegamiento. Cuando se une microglobulina β_2 a la cadena α, la calnexina se libera y la molécula clase I se une a la carabina *calreticulina* y con *tapasina*. La tapasina (proteína relacionada con TAP) acerca el transportador TAP a la molécula clase I y permite que adquiera un péptido antigénico (fig. 8-20). La tapasina puede existir en una forma multimérica de hasta cuatro moléculas, pero aquí se muestra como un monómero por simplicidad. Una proteína adicional con actividad enzimática, ERp57, forma un enlace disulfuro con la tapasina y se une de manera no covalente con la calreticulina para estabilizar la interacción y permitir que se liberen la cadena α del MHC y la microglobulina β_2 después de la adquisición del péptido. La proteína TAP (fig. 8-19b) promueve la captura del péptido por la molécula clase I antes de que los péptidos sean expuestos al ambiente luminal del RER.

Las exoproteasas del ER actuarán en péptidos no unidos a moléculas MHC clase I. La ERAP1, una aminopeptidasa del ER ya mencionada antes, elimina el residuo amino terminal de los péptidos a fin de que adquieran el tamaño óptimo para la unión. La ERAP1 tiene escasa afinidad por péptidos con longitud menor de ocho aminoácidos. Otra aminopeptidasa del ER, la ERAP2, puede degradar péptidos de cualquier longitud, y por tanto elimina cualquiera que sea demasiado corto para su unión óptima a moléculas MHC clase I. La actividad de ERAP en péptidos libres no unidos a las moléculas de clase I en el ER permite a este compartimiento eliminar péptidos no aptos

ENFOQUE CLÍNICO

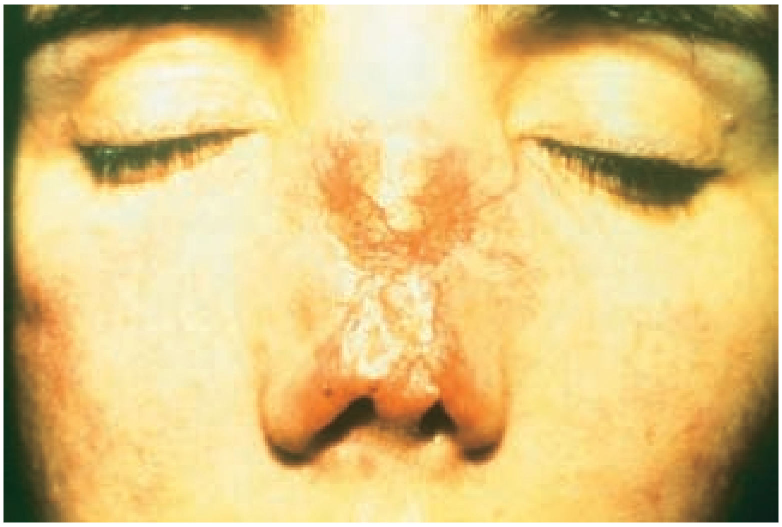
La deficiencia de transportadores relacionados con la presentación de antígeno (TAP) causa una diversa gama de enfermedades

Desde hace más de 20 años se reconoce un padecimiento hasta cierto punto raro denominado síndrome de linfocitos desnudos, o BLS (del inglés *bare lymphocyte syndrome*). Los linfocitos de pacientes con BLS expresan moléculas MHC en concentraciones menores de las normales y en algunos casos carecen por completo de ellas. En el BLS tipo 1 se observa una deficiencia de moléculas MHC clase I; en el BLS tipo 2, la expresión de moléculas clase II está deteriorada. La patogénesis de un tipo de BLS subraya la importancia de la familia clase I de las moléculas MHC en su función doble de prevenir la autoinmunidad y defender contra patógenos.

En algunos casos de BLS tipo 2 se encontraron defectos en las secuencias promotoras que impiden la transcripción del gen MHC, pero en muchos otros la naturaleza del defecto subyacente se desconoce. Un estudio reciente identificó a un grupo de enfermos con BLS tipo 1 por defectos en los genes *TAP1* o *TAP2*. Las manifestaciones de la deficiencia de TAP fueron consistentes en este grupo de pacientes y definieron una enfermedad única. Como se describe en este capítulo, las proteínas TAP son necesarias para la carga de péptidos en las moléculas de clase I, una etapa esencial para la expresión de moléculas MHC clase I en la superficie celular. Los linfocitos de personas con deficiencia de TAP expresan concentraciones de moléculas clase I bastante más bajas que los testigos normales. Otras anormalidades celulares incluyen aumento de las cifras de células asesinas naturales (NK) y T $\gamma\delta$, y disminución de los valores de células T $\alpha\beta$ CD8$^+$. Como se verá, estas desviaciones en los valores de ciertas células que participan en la función inmunitaria explican razonablemente bien las manifestaciones de la enfermedad.

Al inicio de la vida las personas con deficiencia de TAP sufren infecciones bacterianas frecuentes de las vías respiratorias superiores y en el segundo decenio empiezan a presentar infección pulmonar crónica. Se piensa que un síndrome de goteo posnasal común en los pacientes más jóvenes promueve las infecciones pulmonares bacterianas en años posteriores de la vida. Un hecho notable es la ausencia de cualquier infección vírica grave, que es habitual en las inmunodeficiencias que afectan las células T (cap. 20). A menudo ocurre bronquiectasia (dilatación de los conductos bronquiales) y es posible que las infecciones recurrentes ocasionen daño pulmonar potencialmente letal. La característica más notable de la deficiencia son lesiones necrosantes en la piel de las extremidades y la mitad de la cara. Estas lesiones se ulceran y pueden ser desfigurantes. Es probable que las lesiones de la piel se deban a células NK y células T $\gamma\delta$ activadas; el aislamiento de células NK de biopsias de piel de varios pacientes apoya esta posibilidad. En condiciones normales la actividad de las células NK está limitada por la acción de receptores inhibidores de células asesinas (KIR, del inglés *killer-cell inhibitory receptors*), que transmiten una señal negativa a las células NK después de la interacción con moléculas clase I (cap. 14). La deficiencia de moléculas clase I en pacientes con BLS relacionado con TAP explica la actividad excesiva de las células NK. La activación de estas últimas explica además la ausencia de infecciones víricas graves, que son limitadas por células NK y $\gamma\delta$.

Al parecer, el tratamiento más adecuado para las infecciones pulmonares características consiste en antibióticos y globulina inmunitaria intravenosa. Los intentos de limitar la afección de la piel mediante regímenes inmunosupresores, como tratamiento con esteroides o fármacos citotóxicos, pueden exacerbar las lesiones y por consiguiente están contraindicados. En varios pacientes se encontraron mutaciones en la región promotora de la *TAP* que impiden la expresión del gen, lo que sugiere la posibilidad de terapéutica génica, pero la distribución celular de la clase I es tan amplia que aún no se aclara qué células sería necesario corregir para aliviar todos los síntomas.



Lesiones granulomatosas necróticas en la mitad de la cara de un paciente con síndrome de deficiencia de TAP. La deficiencia de TAP produce un trastorno con síntomas característicos de autoinmunidad, como las lesiones de la piel que aparecen en las extremidades y la mitad de la cara, e inmunodeficiencia que causa sinusitis crónica, que a su vez conduce a infección pulmonar recurrente. *[Tomada de S. D. Gadola et al., 1999,* Lancet ***354:****1598, y 2000,* Clinical and Experimental Immunology, ***121:****173.]*

para la unión clase I. Como consecuencia de la unión a péptidos productiva, la molécula clase I presenta mayor estabilidad y puede disociarse del complejo con calreticulina, tapasina y ERp57; salir del ER; y avanzar a la superficie celular vía el complejo de Golgi.

Antígenos exógenos: vía endocítica

Las células presentadoras de antígeno pueden internalizar este último mediante fagocitosis, endocitosis o ambas. Macrófagos y células dendríticas internalizan antígeno por ambos procesos, en tanto que la mayor parte de las otras APC no son fagocíticas, o lo son muy poco, y por consiguiente internalizan antígeno exógeno sólo por endocitosis (sea endocitosis o pinocitosis mediada por receptor). Por ejemplo, las células B internalizan antígeno con gran eficacia por endocitosis mediada por receptor utilizando el anticuerpo de membrana específico de antígeno como receptor.

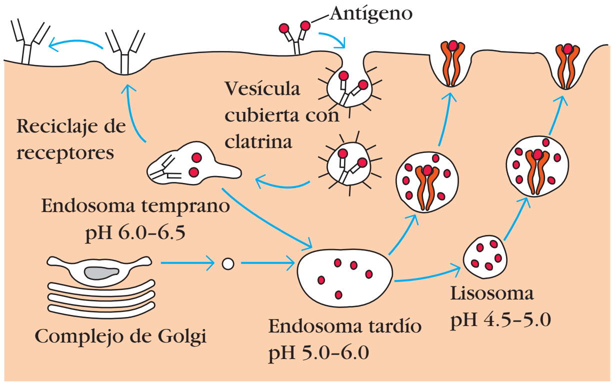

Antígeno
Reciclaje de receptores
Vesícula cubierta con clatrina
Endosoma temprano pH 6.0–6.5
Complejo de Golgi
Endosoma tardío pH 5.0–6.0
Lisosoma pH 4.5–5.0

FIGURA 8-21 Generación de péptidos antigénicos en la vía endocítica de procesamiento. El antígeno exógeno internalizado pasa a través de varios compartimientos ácidos, en los que se degrada en péptidos que por último se vinculan con moléculas MHC clase II transportadas en vesículas desde el complejo de Golgi. La célula que se muestra en esta figura es una célula B, que internaliza antígeno a través de endocitosis mediada por receptor, donde el anticuerpo unido a membrana funciona como un receptor específico de antígeno.

Los péptidos se generan a partir de moléculas internalizadas en vesículas endocíticas

Una vez que un antígeno se internaliza, se degrada en péptidos dentro de compartimientos de las vías endocíticas de procesamiento. Como lo demostró el experimento que se muestra en la figura 8-16, el antígeno internalizado requiere 1 a 3 h para atravesar la vía endocítica y aparecer en la superficie celular en forma de complejos péptido-MHC clase II. Al parecer, la vía endocítica comprende tres compartimientos con acidez creciente: endosomas tempranos (pH 6.0 a 6.5), endosomas tardíos o endolisosomas (pH 5.0 a 6.0) y lisosomas (pH 4.5 a 5.0). El antígeno internalizado pasa de los endosomas tempranos a los tardíos y por último a los lisosomas, y encuentra enzimas hidrolíticas y un pH más bajo en cada compartimiento (fig. 8-21). Por ejemplo, los lisosomas contienen un conjunto único de más de 40 hidrolasas dependientes de ácido, como proteasas, nucleasas, glucosidasas, lipasas, fosfolipasas y fosfatasas. Dentro de los compartimientos de la vía endocítica, el antígeno se degrada en polipéptidos de 13 a 18 residuos, que se unen a moléculas MHC clase II y por tanto están protegidos contra la proteólisis ulterior. Como las enzimas hidrolíticas se activan de manera óptima bajo condiciones ácidas (pH bajo), el procesamiento de antígeno puede inhibirse con agentes químicos que incrementan el pH de los compartimientos (p. ej., cloroquina) y también con inhibidores de proteasa (p. ej., leupeptina).

El mecanismo por el que el antígeno internalizado pasa de un compartimiento endocítico al siguiente aún no se demuestra de modo concluyente. Se sugirió que los endosomas tempranos de la periferia se mueven hacia el interior para convertirse en endosomas tardíos y al final en lisosomas. De manera alternativa, vesículas de transporte pequeñas pueden llevar antígenos de un compartimiento al siguiente. Por último los compartimientos endocíticos, o porciones de ellos, retornan a la periferia de la célula, donde se fusionan con la membrana plasmática. De este modo se reciclan los receptores de superficie.

La cadena invariante guía el transporte de moléculas MHC clase II a las vesículas endocíticas

Puesto que las células presentadoras de antígeno expresan moléculas MHC clase I y clase II, debe existir algún mecanismo que evite que las moléculas MHC clase II se unan al mismo grupo de péptidos antigénicos que las moléculas de clase I. Cuando una molécula MHC clase II se sintetiza dentro del RER, tres pares de cadenas αβ clase II se unen a un trímero preensamblado de una proteína llamada **cadena invariante (Ii, CD74)**. Esta proteína trimérica interactúa con la hendidura de unión de péptido de las moléculas clase II e impide que cualquier péptido derivado de manera endógena se una a la hendidura en tanto la molécula clase II se encuentra dentro del RER (fig. 8-22a). Al parecer la cadena invariante también participa en el plegamiento de las cadenas α y β clase II, su salida del RER y el envío ulterior de las moléculas clase II hacia la vía endocítica de procesamiento desde la red trans-Golgi.

La función de la cadena invariante en el envío de moléculas clase II se demostró en experimentos de transfección con células que carecen de genes codificadores de moléculas MHC clase II y de la cadena invariante. El marcado con inmunofluorescencia de dichas células transfectadas sólo con genes de MHC clase II reveló que las moléculas clase II se localizan dentro del complejo de Golgi. Sin embargo, las moléculas clase II se localizaron en estructuras vesiculares citoplásmicas de la vía endocítica en células transfectadas con genes MHC clase II y gen de cadena invariante. La cola citoplásmica de la

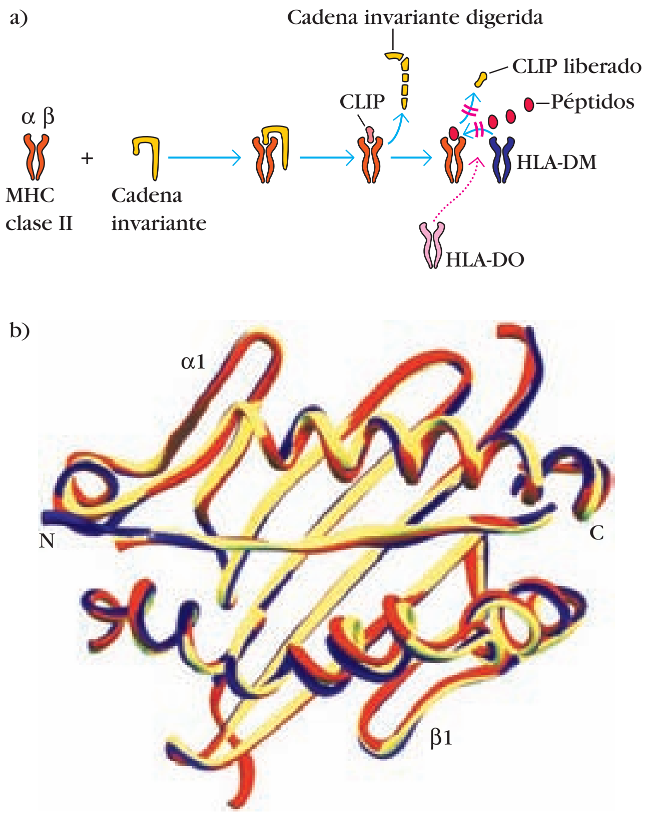


FIGURA 8-22 **a) Ensamblaje de moléculas MHC clase II.** Dentro del retículo endoplásmico rugoso, una molécula MHC clase II recién sintetizada se une a una cadena invariante. La cadena invariante unida evita la unión prematura de péptidos a la molécula clase II y ayuda a dirigir el complejo hacia los compartimientos endocíticos que contienen péptidos derivados de antígenos exógenos. La digestión de la cadena invariante deja un CLIP, un fragmento pequeño que permanece en el surco de unión de la molécula MHC clase II. La HLA-DM, una molécula MHC clase II no clásica que se expresa dentro de los compartimientos endosómicos, media el intercambio de péptidos antigénicos por CLIP. La molécula clase II no clásica HLA-DO puede actuar como un regulador negativo del procesamiento de antígeno clase II al unirse a HLA-DM e inhibir su función en la disociación de CLIP de moléculas clase II. b) Comparación de estructuras tridimensionales que muestran el surco de unión de moléculas de HLA clase II (α1 y β1) que contiene diferentes péptidos antigénicos o péptido de cadena invariante relacionado con clase II (CLIP). Las líneas rojas muestran DR4 en complejo con péptido de colágena II, las líneas amarillas son DR1 con péptido de hemaglutinina de la gripe y las líneas azules son DR3 vinculado con CLIP. (La letra N indica el extremo amino terminal, y la letra C, el extremo carboxilo terminal de los péptidos.) No se observan diferencias mayores en las estructuras de las moléculas clase II ni en la conformación de los péptidos unidos. Esta comparación muestra que CLIP une la molécula clase II de manera idéntica a la de los péptidos antigénicos. *[Parte b de Dessen et. al., 1997,* Immunity ***7**:473-481; cortesía de Don Wiley, Harvard University.]*

cadena invariante contiene señales de clasificación que dirigen el transporte de complejos de MHC clase II de la red trans-Golgi a los compartimientos endocíticos.

Los péptidos se ensamblan con moléculas MHC clase II por desplazamiento de CLIP

Experimentos recientes indican que casi todos los complejos de MHC clase II de cadena invariante se transportan del RER, donde se forman, a través del complejo de Golgi y la red trans-Golgi, y luego por la vía endocítica, pasando de endosomas tempranos a endosomas tardíos y por último a lisosomas. La cadena invariante se degrada de manera gradual conforme la actividad proteolítica aumenta en cada compartimiento sucesivo. Sin embargo, un fragmento corto de la cadena invariante llamado *CLIP* (por *péptido de cadena invariante relacionado con la clase II*) permanece unido a la molécula clase II después de que la cadena invariante se segmenta dentro del compartimiento endosómico. El CLIP ocupa físicamente la hendidura de unión de péptido de la molécula MHC clase II, y se cree que impide cualquier unión prematura de péptidos antigénicos (fig. 8-22a).

Se requiere una molécula MHC clase II no clásica, llamada *HLA-DM*, para catalizar el intercambio de CLIP por péptidos antigénicos (fig. 8-22a). Como otras moléculas MHC clase II, la HLA-DM es un heterodímero de cadenas α y β. No obstante, a diferencia de otras moléculas clase II, la HLA-DM no es polimórfica y no se expresa en la membrana celular sino que se encuentra de manera predominante dentro del compartimiento endosómico. Los genes *DMα* y *DMβ* se localizan cerca de los genes *TAP* y *LMP* en el complejo MHC del ser humano, y DM se expresa en células que expresan moléculas clase II clásicas.

La reacción entre HLA-DM y el complejo CLIP clase II, que facilita el intercambio de este último por otro péptido, se altera en presencia de HLA-DO, que se une a HLA-DM y disminuye la eficacia de la reacción de intercambio. Igual que HLA-DM, HLA-DO es una molécula clase II no clásica y no polimórfica que también se encuentra en el MHC de otras especies. HLA-DO difiere de HLA-DM en que sólo la expresan las células B y el timo y, a diferencia de otras moléculas clase II, su expresión no es inducida por IFN-γ. Una diferencia adicional consiste en que los genes que codifican las cadenas α y β de HLA-DO no son adyacentes en el MHC como todos los otros pares α y β clase II (fig. 8-11).

Una molécula HLA-DR3 relacionada con CLIP se aisló de una línea celular que no expresa HLA-DM y en consecuencia es defectuosa en el procesamiento de antígeno. La superposición de la estructura de HLA-DR3 con CLIP en otra molécula DR unida a péptido antigénico revela que CLIP se une a la clase II en la misma forma estable que el péptido antigénico (fig. 8-22b). El descubrimiento de este complejo estable en una célula con HLA-DM defectuoso apoya el argumento de que se requiere HLA-DM para el reemplazo de CLIP.

Aunque es cierto que HLA-DO modula la actividad de HLA-DM, su función precisa aún se desconoce. Una posibilidad es que actúe en la selección de péptidos unidos a moléculas MHC clase II en células B. DO se presenta en complejo con DM en estas células, y tal vinculación continúa en los compartimientos endosómicos. Las condiciones de mayor acidez debilitan la vinculación DM/DO e incrementan la posibilidad de unión de péptidos antigénicos a pesar de la presencia de DO. Esta interacción dependiente de pH podría hacer que se seleccionaran de manera preferencial péptidos unidos clase II de los compartimientos lisosómicos en las células B en comparación con otras APC.

Como en el caso de las moléculas MHC clase I, se requiere la unión de péptidos para conservar la estructura y la estabilidad de las moléculas MHC clase II. Una vez que el péptido se une, el complejo péptido-clase II es transportado a la membrana plasmática, donde al parecer el pH neutro permite que el complejo asuma una forma compacta estable. El péptido se une con tal firmeza en esta forma compacta que es difícil sustituir un péptido unido con moléculas clase II en la membrana por otro péptido en condiciones fisiológicas.

En la figura 8-23 se recapitula la vía endógena (lado izquierdo) y se le compara con la vía exógena separada (lado derecho),

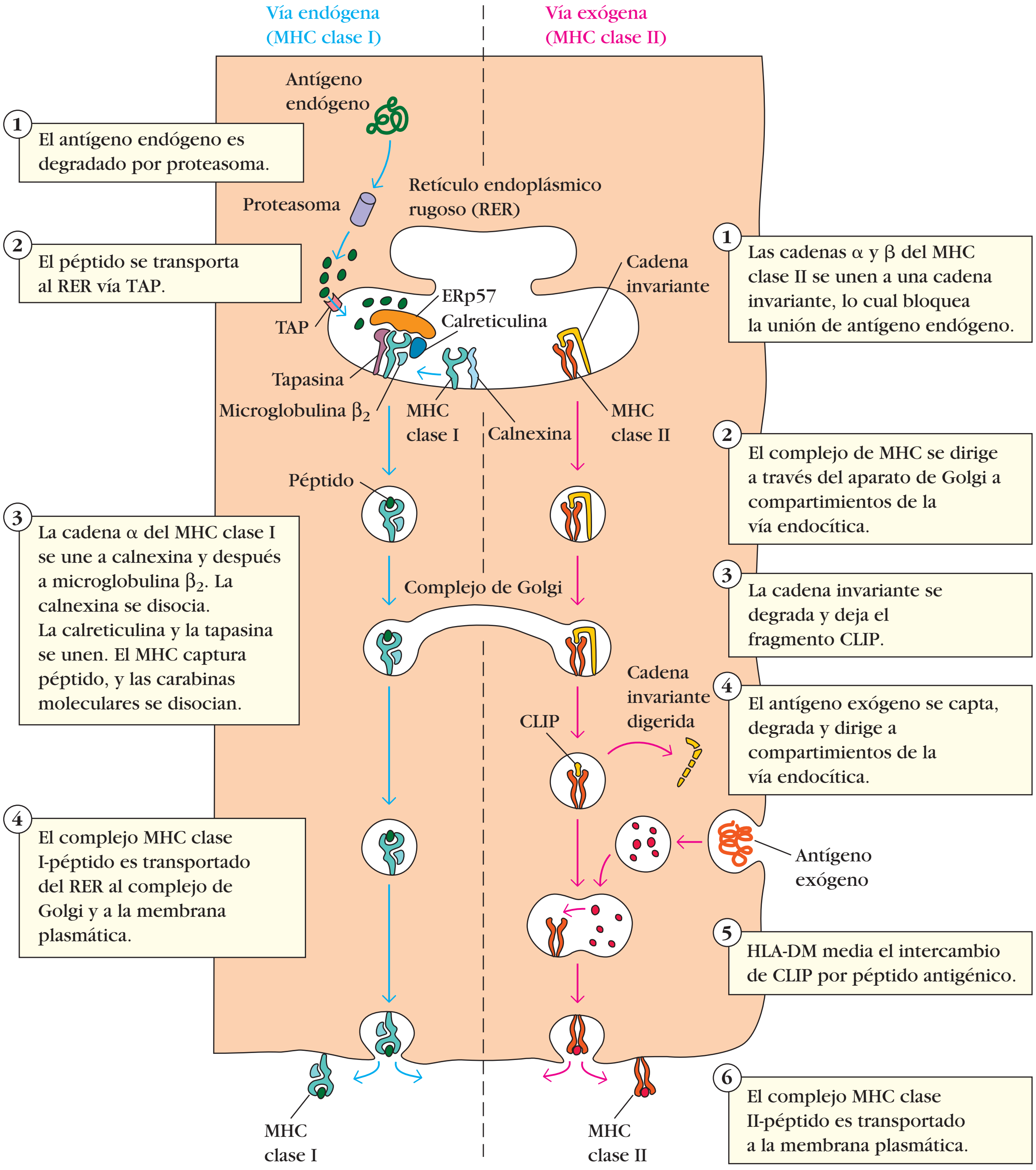

Vía endógena
(MHC clase I)
Vía exógena
(MHC clase II)
Antígeno endógeno
1
El antígeno endógeno es degradado por proteasoma.
Proteasoma
Retículo endoplásmico rugoso (RER)
2
El péptido se transporta al RER vía TAP.
TAP
ERp57
Calreticulina
Cadena invariante
1
Las cadenas α y β del MHC clase II se unen a una cadena invariante, lo cual bloquea la unión de antígeno endógeno.
Tapasina
Microglobulina β_2
MHC clase I
Calnexina
MHC clase II
2
El complejo de MHC se dirige a través del aparato de Golgi a compartimientos de la vía endocítica.
Péptido
3
La cadena α del MHC clase I se une a calnexina y después a microglobulina β_2. La calnexina se disocia. La calreticulina y la tapasina se unen. El MHC captura péptido, y las carabinas moleculares se disocian.
Complejo de Golgi
3
La cadena invariante se degrada y deja el fragmento CLIP.
Cadena invariante digerida
CLIP
4
El antígeno exógeno se capta, degrada y dirige a compartimientos de la vía endocítica.
4
El complejo MHC clase I-péptido es transportado del RER al complejo de Golgi y a la membrana plasmática.
Antígeno exógeno
5
HLA-DM media el intercambio de CLIP por péptido antigénico.
6
El complejo MHC clase II-péptido es transportado a la membrana plasmática.
MHC clase I
MHC clase II

FIGURA 8-23 **Los antígenos endógenos (verde) y exógenos (rojos) utilizan vías de presentación de antígeno distintas.** El modo en que el antígeno penetra en las células y el sitio de su procesamiento determinan que los péptidos antigénicos se unan a moléculas MHC clase I en el retículo endoplásmico rugoso o a moléculas clase II en compartimientos endocíticos.

ya considerada. El que un péptido antigénico se una a moléculas de clase I o clase II es determinado por el modo de entrada en la célula, sea exógeno o endógeno, y por el sitio de procesamiento. Sin embargo, veremos que estas asignaciones no son absolutas y que en algunas APC los antígenos exógenos pueden ser presentados por antígenos clase I a través de un proceso denominado presentación cruzada.

Presentación cruzada de antígenos exógenos

En determinados casos, las APC pueden presentar antígeno exógeno a células T citotóxicas en el contexto de moléculas MHC clase I. Este fenómeno de presentación cruzada fue advertido por primera vez por Michael Bevan, y en fecha más reciente Peter Cresswell lo describió en detalle. En él se requiere que antígenos internalizados que normalmente serían manejados por la vía exógena que lleva a la presentación por MHC clase II pasen en cambio a la vía endógena para la carga clase I de péptidos. Éstos son presentados entonces (de manera cruzada) en el contexto de moléculas MHC clase I. Entre los mecanismos propuestos para la presentación cruzada se incluyen el intercambio dentro del compartimiento endosómico de péptidos exógenos por otros ya cargados en moléculas clase I en el ER. También es posible que los péptidos exógenos tengan acceso al ER para pasar por toda la secuencia de procesamiento. En la actualidad se desconoce si las APC capaces de realizar la presentación cruzada utilizan este mecanismo como una alternativa a la presentación normal de antígeno endógeno, o si es la vía exclusiva para la presentación por MHC clase I en estas células. En la figura 8-24 se presenta una vía hipotética para la presentación cruzada; sigue sin definirse el medio exacto por el cual el antígeno logra pasar de la vía exógena a la endógena.

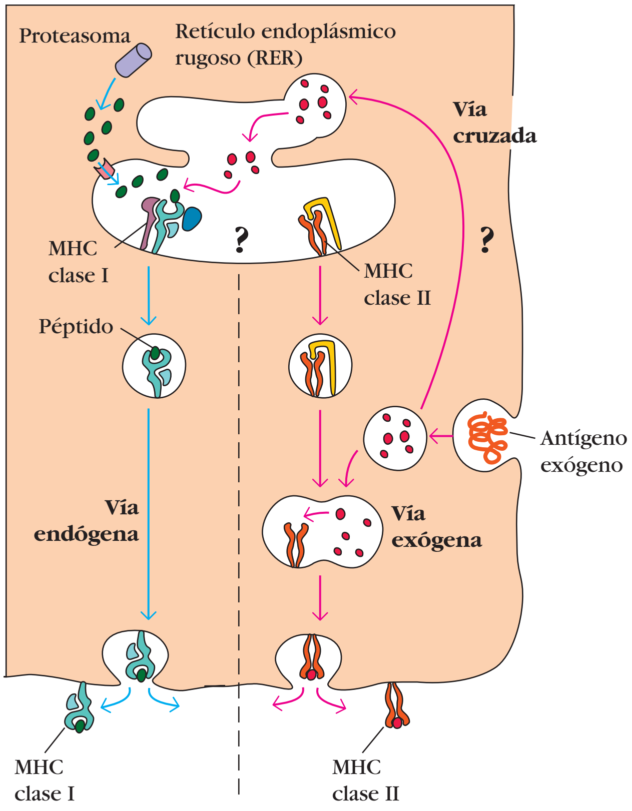


FIGURA 8-24 Mecanismo hipotético para la presentación cruzada de antígeno exógeno por moléculas MHC clase I. Este proceso ocurre sólo en determinadas células presentadoras de antígeno y permite la unión a MHC clase I de antígenos que se adquieren por fagocitosis o mecanismos endocíticos. En antígeno puede ser internalizado por cualquier vía, y es procesado a fin de producir péptidos apropiados para la unión clase I. Los signos de interrogación indican tramos inciertos en la vía para la carga de péptidos por MHC clase I.

Los ejemplos más claros de presentación cruzada se encuentran en células dendríticas; no existe certeza acerca de si la presentación cruzada opera en algunas otras APC, aunque los primeros informes indican que los macrófagos también tienen esta capacidad. Como se expone en el capítulo 14, la capacidad de las células dendríticas de presentar antígenos de manera cruzada constituye una gran ventaja para el hospedador, ya que permite a dichas células capturar virus, procesar antígenos víricos y generar CTL capaces de atacar virus y células infectadas por virus antes de la diseminación sistémica de la infección vírica.

Aunque las células dendríticas carecen de los receptores de célula hospedadora específicos que los virus aprovechan para su ingreso, aun así pueden capturar muchos virus distintos para procesamiento y presentación. Quizá la principal interrogante que queda acerca de la presentación cruzada es cómo y en qué parte de la célula las dos vías relativamente bien definidas de presentación de antígeno se fusionan para permitir que un antígeno exógeno sea presentado como uno endógeno. Ésta es un área de intensa investigación, y se espera que haya respuestas.

Presentación de antígenos no peptídicos

Hasta este punto, el análisis de la presentación de antígenos se limitó a antígenos peptídicos y su presentación por moléculas MHC clase I y clase II clásicas. Se sabe bien que el sistema inmunitario también reconoce antígenos no proteínicos, y en el decenio de 1980 se detectó la proliferación de células T en presencia de antígenos no proteínicos derivados de agentes infecciosos. Informes más recientes indican que las células T que expresan TCR $\gamma\delta$ (los receptores de las células T son dímeros de cadenas $\alpha\beta$ o $\gamma\delta$) reaccionan con antígenos glucolípidos derivados de bacterias como *Mycobacterium tuberculosis.* Estos antígenos no proteínicos son presentados por miembros de la familia CD1 de moléculas clase I no clásicas.

La familia CD1 de moléculas se vincula con la microglobulina β_2 y tiene una similitud estructural general con las moléculas MHC clase I. Cinco genes codifican moléculas CD1 humanas (*CD1A* a *E*, que codifican los productos génicos CD1a a e). Estos genes no se localizan dentro del MHC sino en el

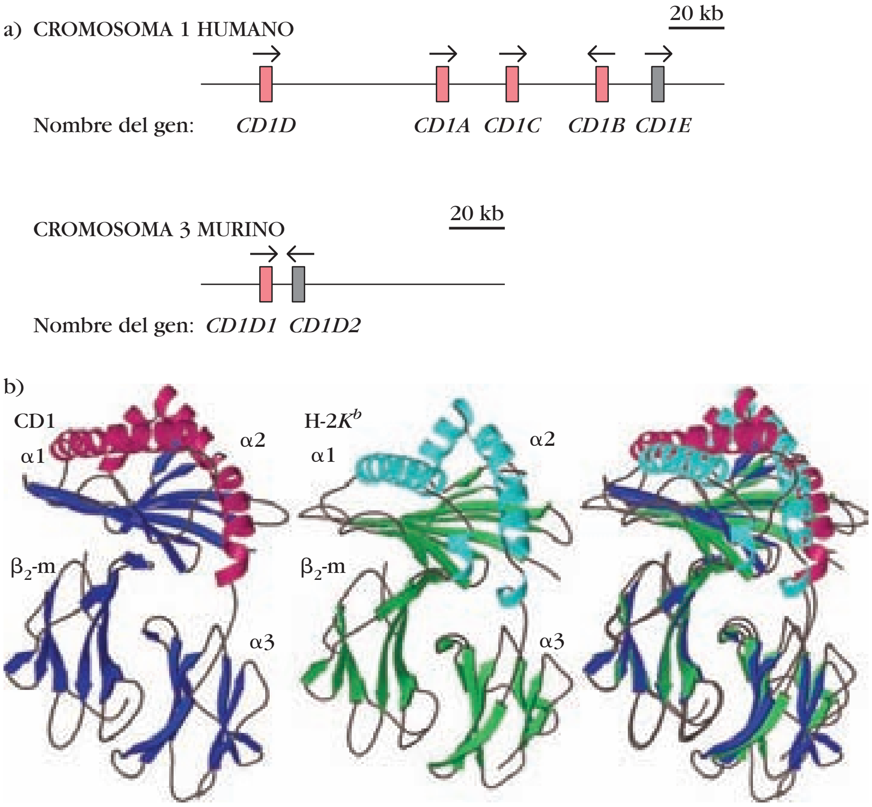


FIGURA 8-25 Familia de genes *CD1* y estructura de una molécula CD1. a) Genes que codifican la familia CD1 de moléculas en el ser humano (arriba) y el ratón (abajo). Los genes se separan en dos grupos con base en la identidad de secuencia; los genes *CD1A, B, C* y *E* forman el grupo 1; los genes *CD1D*, el grupo 2. Los productos de los genes de color rosa han sido caracterizados; aún están por definirse las funciones de los productos de los genes grises. b) Comparación de las estructuras cristalinas de moléculas CD1 no clásica y clase I clásica H-2K^b de ratón. Obsérvense las diferencias en los surcos de unión de antígeno. *[Parte b reimpresa de* Trends en Immunology *(antes* Immunology Today*), Vol. 19, S.A. Porcelli y R. L. Modlin, The CD1 family of lipid antigen presenting molecules, pp. 362-368, 1998, con autorización de Elsevier Science.]*

cromosoma 1 (fig. 8-25a). Los genes se clasifican en dos grupos con base en la homología de secuencia. El grupo 1 incluye *CD1A, B, C* y *E; CDID* se encuentra en el grupo 2. Todas las especies de mamíferos estudiadas tienen genes CD1, aunque su número varía. Los roedores sólo poseen genes *CD1* grupo 2, la contraparte del *CD1D* humano, en tanto que los conejos, como el ser humano, tienen cinco genes que incluyen los tipos tanto del grupo 1 como del 2. La identidad de secuencia de CD1 con moléculas clase I clásicas es bastante más baja que la identidad de las moléculas clase I entre sí. La comparación de la estructura tridimensional de CD1 del ratón con la molécula MHC clase I H-2K^b muestra que el surco de unión de antígeno de las moléculas CD1 es más profundo y voluminoso que el de la molécula clase I clásica (fig. 8-25b).

La expresión de moléculas CD1 varía según el subconjunto; los genes *CD1D1* se expresan sobre todo en APC no profesionales y en ciertos subconjuntos de células B. El CD1d1 de ratón se distribuye con mayor amplitud y se encuentra en células T, células B, células dendríticas, hepatocitos y algunas células epiteliales. Los genes *CD1A, B* y *C* se expresan en timocitos inmaduros y APC profesionales, sobre todo las de tipo dendrítico. La expresión del gen *CD1C* se observa en células B, pero no así los productos de *CD1A* y *B*. Los genes *CD1* pueden ser inducidos por la exposición a ciertas citocinas como GM-CSF o IL-3. Los patrones de transporte intracelular de las moléculas CD1 difieren; por ejemplo, CD1a se encuentra ante todo en endosomas tempranos o en la superficie celular, CD1b y CD1d se localizan en endosomas tardíos, y CD1c se halla en todo el sistema endocítico.

Las células T reconocen ciertas moléculas CD1 en ausencia de antígenos extraños, y en estas reacciones puede demostrarse autorrestricción. El examen de antígenos presentados por moléculas CD1 reveló que son componentes lipídicos (ácido micólico) de la pared celular de *M. tuberculosis*. Estudios más amplios de la presentación de CD1 indicaron que estas moléculas también podrían presentar un glucolípido (lipoarabinomanano) de *Mycobacterium leprae*. Los datos concernientes a la presentación de antígeno por CD1 señalan la existencia de una tercera vía para el procesamiento de antígenos, una vía con etapas intracelulares distintas que no incluye las moléculas que se sabe facilitan el procesamiento del antígeno clase I. Por ejemplo, las moléculas CD1 son capaces de procesar antígeno en células con deficiencia de TAP. Datos recientes indican que las moléculas CD1a y 1b se transportan de manera diferente, con CD1a en la superficie o en los compartimientos endocíticos de reciclaje y CD1b y CD1d en los compartimientos lisosómicos. Aún se discute el modo en que la vía CD1 complementa o interseca las vías clase I y clase II mejor conocidas. Al inicio se pensó que los tipos de célula T reactivas a CD1 se limitaban a células T que expresaban el TCR γδ y carecían tanto de CD4 como de CD8, o a células T con TCR de una cadena α, pero informes recientes señalan que una gama más amplia de tipos de células T reconoce células presentadoras de CD1. Pruebas recientes indican que las células T asesinas naturales (células T NK) reconocen moléculas CD1d presentadoras de antígeno autólogo así como glucoesfingolípidos bacterianos, lo cual sugiere la participación de una respuesta inmunitaria de tipo innato a determinadas bacterias. Esta actividad se considera en el capítulo 14.

RESUMEN

- El complejo mayor de histocompatibilidad (MHC) codifica moléculas clase I y clase II, que funciona en la presentación de antígeno a células T, y moléculas clase II, que tienen funciones diversas.
- Los genes MHC están unidos de manera estrecha y por lo general se heredan de los padres como una unidad; estas unidades enlazadas se denominan haplotipos.
- Los genes MHC son polimórficos porque existen muchos alelos para cada gen, y poligénicos porque hay varios genes MHC diferentes.
- Las moléculas MHC clase I consisten en una cadena glucoproteínica grande y microglobulina β_2, una proteína con sólo un dominio.
- Las moléculas MHC clase II están compuestas por dos glucoproteínas relacionadas de manera no covalente, las cadenas α y β, codificadas por genes MHC separados.
- Las moléculas clase I se expresan en la mayor parte de las células nucleadas; los antígenos clase II se restringen a las células B, los macrófagos y las células dendríticas.
- El mapeo detallado del MHC del ser humano y el ratón revela la presencia de genes que participan en el procesamiento de antígeno, inclusive proteasomas y transportadores.
- Los alelos MHC influyen en la reactividad inmunitaria y la capacidad de presentar antígeno, así como en la susceptibilidad a varias enfermedades.
- En general, las moléculas clase I presentan antígeno endógeno procesado a células T_C CD8$^+$, y las moléculas clase II presentan antígeno exógeno procesado a células T_H CD4$^+$.
- Los antígenos endógenos son degradados en péptidos dentro del citosol por proteasomas, se ensamblan con moléculas clase I en el RER, y son presentados sobre la membrana a células T_C CD8$^+$.
- Los antígenos exógenos se internalizan y degradan dentro de compartimientos endocíticos ácidos y después se combinan con moléculas de clase II para su presentación a células T_H CD4$^+$.
- La unión de péptido a moléculas clase II incluye la sustitución de un fragmento de cadena invariante en la hendidura de unión mediante un proceso catalizado por la molécula MHC no clásica HLA-DM.
- En determinados tipos celulares, los antígenos peptídicos exógenos pueden acceder a vías de presentación de clase I a través de fagosomas en un proceso llamado presentación cruzada.
- La presentación de antígenos no peptídicos (lípidos y glucolípidos) derivados de bacterias incluye las moléculas CD1 similares a clase I.

Bibliografía

Ackerman, A. L., and P. Cresswell. 2004. Cellular mechanisms governing cross-presentation of exogenous antigens. *Nature Immunology* **5:**678.

Brigl, M., and M. B. Brenner. 2004. CD1: Antigen presentation and T cell function. *Annual Review of Immunology* **22:**817.

Brode, S., and P. A. Macary. 2004. Cross-presentation: Dendritic cells and macrophages bite off more than they can chew! *Immunology* **112:**345.

Brown, J. H., et al. 1993. Three-dimensional structure of the human class II histocompatibility antigen HLA-DR1. *Nature* **364:**33.

Doherty, P. C., and R. M. Zinkernagel. 1975. H-2 compatibility is required for T-cell mediated lysis of target cells infected with lymphocytic choriomeningitis virus. *Journal of Experimental Medicine* **141:**502.

Fahrer, A. M., et al. 2001. A genomic view of immunology. *Nature* **409:**836.

International Human Genome Sequencing Consortium. 2001. Initial sequencing and analysis of the human genome. *Nature* **409:**860.

Gadola, S. D., et al. 2000. TAP deficiency syndrome. *Clinical and Experimental Immunology* **121:**173.

Horton R., et al. 2004. Gene map of the extended human MHC. *Nature Reviews Genetics* **5:**1038.

Kelley, J., et al. 2005. Comparative genomics of major histocompatibility complexes. *Immunogenetics* **56:**683.

Madden, D. R. 1995. The three-dimensional structure of peptide-MHC complexes. *Annual Review of Immunology* **13:**587.

Margulies, D. 1999. The major histocompatibility complex. In *Fundamental Immunology*, 4th ed. W. E. Paul, ed. Lippincott-Raven, Philadelphia.

Parham, P. 1999. Virtual reality in the MHC. *Immunological Reviews* **167:**5.

Rock, K. L., et al. 2004. Post-proteosomal antigen processing for major histocompatibility complex class I presentation. *Nature Immunology* **5:**670.

Rothenberg, B. E., and J. R. Voland. 1996. Beta 2 knockout mice develop parenchymal iron overload: A putative role fo class I genes of the major histocompatibility complex in iron metabolism. *Proceedings of the National Academy of Science U.S.A.* **93:**1529.

Rouas-Freiss, N., et al. 1997. Direct evidence to support the role of HLA-G in protecting the fetus from maternal uterine natural killer cytolysis. *Proceedings of the National Academy of Science U.S.A.* **94:**11520.

Sugita, M., et al. 2004. New insights into pathways for CD1-mediated antigen presentation. *Current Opinion in Immunology* **16:**90.

Sitios útiles de la red

http://www.bioscience.org/

Este sitio de *Bioscience* incluye una sección llamada Databases, donde se enumeran desactivaciones génicas. Proporciona información acerca de estudios sobre las consecuencias de la alteración dirigida de moléculas MHC y otras moléculas componentes, incluidas microglobulina β_2 y la cadena invariante clase II.

http://www.bshi.org.uk/

La página de la British Society for Histocompatibility and Immunogenetics contiene información respecto a tipificación, trasplante de tejidos y enlaces con sitios mundiales relacionados con el MHC.

http://www.nature.com/nrg/journal/v5/n12/poster/MHCmap

Cartel con un mapa génico ampliado del MHC humano, procedente de la referencia de Horton et al. citada antes.

http://www.ebi.ac.uk/imgt/hla/

La sección de la base de datos de The International ImMunoGeneTics (IMGT) contiene enlaces con sitios que contienen información sobre estructura y genética del gen de HLA. También incluye listas y secuencias actualizadas para todos los alelos de HLA reconocidos oficialmente por el comité de nomenclatura de HLA de la Organización Mundial de la Salud.

Preguntas de estudio

Pregunta de enfoque clínico Los pacientes con deficiencia de TAP tienen manifestaciones de inmunodeficiencia parcial y autoinmunitarias. ¿Cómo explican los perfiles de células inmunitarias del paciente la inmunodeficiencia parcial? ¿Por qué es difícil diseñar una terapéutica génica para esta enfermedad a pesar de que se relaciona con el defecto de un gen aislado?

1. Indique si cada una de las afirmaciones siguientes es verdadera o falsa. Si piensa que una afirmación es falsa, explique por qué.
   a. Un anticuerpo monoclonal específico para microglobulina β_2 puede utilizarse a fin de detectar moléculas MHC clase I tanto K como D en la superficie de células.
   b. Las células presentadoras de antígeno expresan moléculas MHC tanto clase I como clase II en sus membranas.
   c. Los genes MHC clase III codifican proteínas de unión a membrana.
   d. En poblaciones exogámicas es más probable que un individuo sea histocompatible con uno de sus padres que con sus hermanos.
   e. Por lo general las moléculas MHC clase II se unen a péptidos más largos que las moléculas clase I.
   f. Todas las células expresan moléculas MHC clase I.
   g. La mayor parte de los péptidos que muestran moléculas MHC clase I y clase II en las células se deriva de proteínas propias.

2. Un ratón BALB/c (H-2^d) se cruza con uno CBA (H-2^k). ¿Qué moléculas MHC expresará la progenie F$_1$ en sus a) células hepáticas y b) macrófagos?

3. Para conducir estudios sobre la estructura y la función de la molécula MHC clase I K^b y la molécula MHC clase II IA^b, se decide transfectar los genes que codifican estas proteínas en una línea celular de fibroblastos de ratón (célula L) derivada de la cepa C3H (H-2^k). En condiciones normales las células L no funcionan como células presentadoras de antígeno. En el cuadro siguiente, indique qué moléculas MHC de las que se enumeran se expresarán (+) o no (−) en la membrana de las células L transfectadas.

	Moléculas MHC expresadas en la membrana de las células L transfectadas					
Gen transfectado	**D^k**	**D^b**	**K^k**	**K^b**	**IA^k**	**IA^b**
Ninguno						
K^b						
$IA\alpha^b$						
$IA\beta^b$						
$IA\alpha^b$ e $IA\beta^b$						

4. La cepa murina SJL, que tiene el haplotipo H-2^k, presenta una deleción del locus *IE*α.
   a. Enumere las moléculas MHC clásicas que se expresan en la membrana de macrófagos de los ratones SJL.
   b. Si los genes clase II *IE*α e *IE*β de una cepa H-2^k se transfectan en macrófagos SJL, ¿qué moléculas MHC clásicas adicionales se expresarían en los macrófagos transfectados?

5. Elabore diagramas que ilustren la estructura general, inclusive los dominios, de moléculas MHC clase I, moléculas MHC clase II y anticuerpo unido a membrana en células B. Marque cada cadena y el dominio dentro de ella, las regiones de unión de antígeno y las regiones que tienen la estructura del pliegue de la inmunoglobulina.

6. Una de las características distintivas del MHC es el gran número de diferentes alelos en cada locus.
   a. ¿Dónde se encuentra la mayor parte de los aminoácidos polimórficos localizados en las moléculas MHC? ¿Cuál es la importancia de esta localización?
   b. ¿Cómo se cree que se genera el polimorfismo de MHC?

7. Como estudiante de una clase de laboratorio de inmunología, al lector se le proporcionan células esplénicas de un ratón inmunizado con el virus LCM (LCMV). Usted determina la actividad funcional específica de antígeno de estas células con dos valoraciones diferentes. En la valoración 1 se incuban células esplénicas con macrófagos que se expusieron brevemente al virus LCM; la producción de interleucina 2 (IL-2) es una respuesta positiva. En la valoración 2 se incuban las células esplénicas con células blanco infectadas con LCM; la lisis de las células blanco constituye una respuesta positiva. En el cuadro adjunto se presentan los resultados de las valoraciones utilizando macrófagos y células blanco de diferentes haplotipos. Observe que el experimento se diseñó de manera que excluye respuestas alorreactivas (reacciones contra moléculas MHC no propias).
   a. ¿De cuál población celular es la actividad que se detecta en cada una de las dos valoraciones?
   b. ¿Cuáles son las moléculas MHC cuya actividad funcional se detecta en cada una de las dos valoraciones?
   c. Con base en los resultados de este experimento, ¿qué moléculas MHC se requieren, además del virus LCM, para la reactividad específica de las células esplénicas en cada una de las dos valoraciones?

Cepa de ratón utilizada como fuente de macrófagos y células blanco	**Haplotipo MHC de macrófagos y células blanco infectadas con virus**				**Respuesta de células esplénicas**	
	K	**IA**	**IE**	**D**	**Producción de IL-2 en respuesta a macrófagos pulsados por LCMV (ensayo 1)**	**Lisis de células infectadas por LCMV (ensayo 2)**
C3H	*k*	*k*	*k*	*k*	+	–
BALB/c	*d*	*d*	*d*	*d*	–	+
(BALB/c x B10.A)F_1	*d/k*	*d/k*	*d/k*	*d/d*	+	+
A.TL	*s*	*k*	*k*	*d*	+	+
B10.A (3R)	*b*	*b*	*b*	*d*	–	+
B10.A (4R)	*k*	*k*	–	*b*	+	–

Para usarse con la pregunta 7

d. ¿Qué experimentos adicionales podrían realizarse a fin de confirmar sin ambigüedad las moléculas MHC necesarias para la reactividad específica de antígeno de las células esplénicas?
e. ¿Cuál de las cepas de ratones enumeradas en el cuadro adjunto podría haber sido el origen de las células esplénicas inmunizadas estudiadas en las valoraciones funcionales? Explique sus razones.

8. Una clona de células T_C reconoce un péptido particular de virus de sarampión cuando es presentado por H-2D^b. Otra molécula MHC tiene una hendidura de unión de péptido idéntica a la de H-2D^b pero difiere de esta última en varios otros aminoácidos en el dominio α1β1. Prediga si la segunda molécula MHC podría presentar este péptido de virus de sarampión a la clona de células T_C. Explique en forma breve su respuesta.

9. Los glóbulos rojos humanos no contienen núcleo y no expresan ninguna molécula MHC. ¿Por qué es afortunada esta propiedad para las transfusiones sanguíneas?

10. La combinación alélica hipotética de *HLA-A99* y *HLA-B276* conlleva un riesgo relativo de 200 de una enfermedad rara, no denominada aún, que es letal en preadolescentes.

    a. ¿Contraerá la enfermedad cualquier individuo con la combinación alélica *A99/B276*?
    b. ¿Cualquiera con la enfermedad tiene la combinación *A99/B276*?
    c. ¿Con qué frecuencia se observará la combinación alélica *A99/B276* en la población general? ¿Piensa que esta combinación será más o menos frecuente que la predicha por la frecuencia de los dos alelos individuales? ¿Por qué?

11. Explique la diferencia entre los términos *célula presentadora de antígeno* y *célula blanco*, como suelen utilizarse en inmunología.

12. Defina los términos siguientes:

    a. Restricción a MHC propio
    b. Procesamiento de antígeno
    c. Antígeno endógeno
    d. Antígeno exógeno

13. Para cada uno de los componentes o procesos celulares siguientes, indique si participa en el procesamiento y la presentación de antígenos exógenos (EX), antígenos endógenos (EN) o ambos (A). Explique brevemente la función de cada uno.

    a. _______ moléculas MHC clase I
    b. _______ moléculas MHC clase II
    c. _______ cadenas invariantes (Ii)
    d. _______ hidrolasas lisosómicas
    e. _______ proteínas TAP1 y TAP2
    f. _______ transporte de vesículas del RER al complejo de Golgi
    g. _______ proteasomas
    h. _______ fagocitosis o endocitosis
    i. _______ calnexina
    j. _______ CLIP
    k. _______ tapasina

14. Se demostró que las células presentadoras de antígeno poseen péptido lisosómico 46-61 junto con la molécula clase II IA^k. Cuando se incuban células T_H CD4^+ con APC y lisozima natural o el péptido lisosómico sintético 46-61, ocurre la activación de la célula T_H.

    a. La presentación de la proteína natural se inhibe si se añade cloroquina a la mezcla de incubación, pero el péptido continúa induciendo la activación de células T_H. Explique por qué.
    b. Si se retrasa la adición de cloroquina por 3 h, la presentación de la proteína natural no se inhibe. Explique por qué.

15. Las células que pueden presentar antígeno a células T_H se clasifican en dos grupos: APC profesionales y no profesionales.

    a. Mencione los tres tipos de APC profesionales. Para cada uno indique si expresan moléculas MHC clase II y una señal coestimuladora en forma constitutiva o deben activarse antes de hacerlo.
    b. Dé tres ejemplos de APC no profesionales. ¿Cuándo es más probable que funcionen estas células en la presentación de antígeno?

16. Prediga si ocurrirá proliferación de células T_H o citólisis mediada por CTL de células blanco con las mezclas celulares siguientes. Las células T_H CD4^+ son de ratones cebados con lisozima y las CTL CD8^+ son de ratones infectados con gripe.

Utilice R para indicar una respuesta y NR para señalar que no hay respuesta.

a. _______ células T_H H-2^k + macrófagos H-2^k pulsados por lisozima

b. _______ células T_H H-2^k + macrófagos H-$2^{b/k}$ pulsados por lisozima

c. _______ células T_H H-2^k + macrófagos H-2^d cebados con lisozima

d. _______ CTL H-2^k + macrófagos H-2^k infectados con gripe

e. _______ CTL H-2^k + macrófagos H-2^d infectados con gripe

f. _______ CTL H-2^d + macrófagos H-$2^{d/k}$ infectados con gripe

17. HLA-DM y HLA-DO se denominan moléculas MHC clase II no clásicas. ¿En qué difieren de las MHC clase II clásicas? ¿En qué difieren entre sí?

18. En fecha reciente se demostró que las moléculas de la familia CD1 presentan antígenos no peptídicos.

    a. ¿Cuál es la mayor fuente de antígenos no peptídicos?
    b. ¿Por qué las moléculas CD1 no se clasifican como miembros de la familia MHC aunque se unen a microglobulina β_2?
    c. ¿Qué pruebas sugieren que la vía CD1 es distinta de la que utilizan las moléculas MHC clase I clásicas?

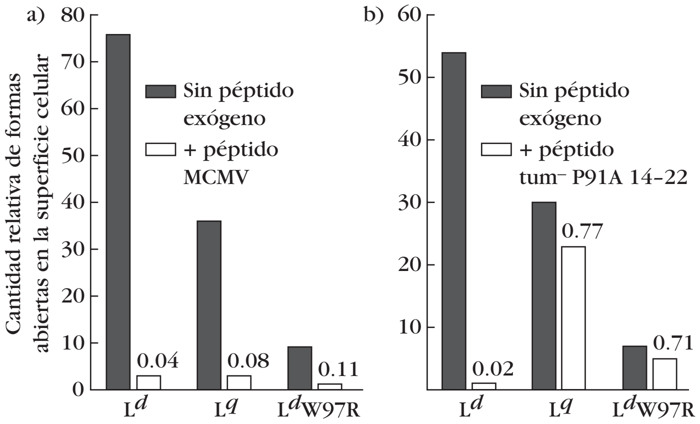
19. Un portaobjetos con macrófagos se sometió a tinción inmunofluorescente usando un anticuerpo monoclonal para el complejo TAP1/TAP2. ¿Cuál de los siguientes compartimientos intracelulares exhibiría tinción positiva con este anticuerpo?

    a. Superficie celular
    b. Retículo endoplásmico
    c. Aparato de Golgi
    d. Las células no serían positivas, porque el complejo TAP1/TAP2 no se expresa en macrófagos.

20. Los determinantes HLA se emplean no sólo para tipificación tisular de órganos trasplantados, sino también como un conjunto de marcadores en pruebas de paternidad. Dados los siguientes fenotipos, ¿cuál de los posibles padres es más probable que sea el padre biológico verdadero? Indique para cada uno por qué podría o no podría ser el padre biológico.

	HLA-A	HLA-B	HLA-C
Descendencia:	A3, 43	B54, 59	C5, 8
Madre biológica:	A3, 11	B59, 78	C8, 8
Posible padre 1:	A3, 33	B54, 27	C5, 5
Posible padre 2:	A11, 43	B54, 27	C5, 6
Posible padre 3:	A11, 33	B59, 26	C6, 8

ANALICE LOS DATOS Smith y colaboradores (*J. Immunology* **169:** 3105, 2002) examinaron la capacidad de dos péptidos de unirse a dos alotipos distintos, L^d y L^q, de la molécula MHC clase I murina. Consideraron a) la unión de un péptido de citomegalovirus murino (MCMV; secuencia de aminoácidos YPHFMPTNL) y b) un péptido sintetizado, tum$^-$ P91A 14-22 (TQNHRALDL). Antes y después de pulsar las células con los péptidos blanco, los investigadores midieron la cantidad de moléculas MHC libres de péptido en la superficie de células que expresaban L^d, L^q o un L^d mutante en el que el triptófano fue sustituido por arginina como aminoácido 97 (L^d W97R). La capacidad del péptido de reducir el número relativo de formas abiertas en la superficie celular refleja una mayor unión de péptido a las moléculas MHC clase I. Conteste las siguientes preguntas con base en los datos y lo que ha aprendido de este libro.



a. ¿Existen diferencias alotípicas en la unión de péptido a moléculas MHC clase I nativas en la superficie celular?

b. ¿Hay diferencia en la unión del péptido MCMV a L^d después de la mutación que sustituye triptófano (W) por arginina (R) en la posición 97 de la molécula de L^d? Explique su respuesta.

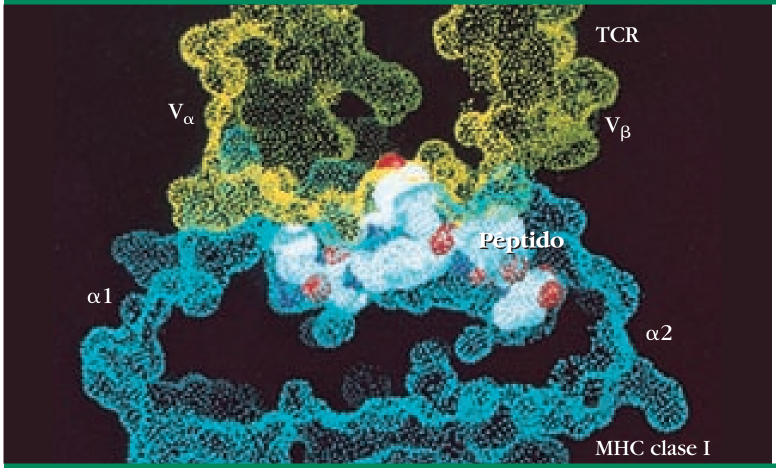
c. ¿Hay diferencia en la unión del péptido tum$^-$ P91A 14-22 a L^d después de la mutación que sustituye triptófano (W) por arginina (R) en la posición 97 de la molécula de L^d? Explique su respuesta.

d. Si deseara inducir una respuesta de células T CD8$^+$ contra péptido tum$^-$ P91A 14-22, ¿inyectaría a un ratón que expresa L^q o L^d? Explique su respuesta.

e. Las células T generadas contra el péptido MCMV tienen distinta especificidad que las células T generadas contra el péptido tum$^-$ P91A 14-22 cuando L^d es la molécula MHC limitante. Explique cómo es que diferentes péptidos pueden unirse a la misma molécula de L^d y aun así restringir o presentar péptido a células con diferentes especificidades antigénicas.

capítulo 9

Receptor de célula T



Interacción del receptor de célula T (amarillo) con una molécula MHC clase I (azul) que presenta péptido (blanco y rojo). [De D. N. Garboczi et al., 1996,* Nature *384:134-141, cortesía de D. C. Wiley, Harvard University.]

- Primeros estudios sobre el receptor de célula T
- Receptores de célula T αβ y γδ: estructuras y funciones
- Organización y reordenamiento de los genes del TCR
- Complejo receptor de célula T: TCR-CD3
- Moléculas de membrana accesorias de la célula T
- Estructuras tridimensionales de complejos TCR-péptido-MHC
- Alorreactividad de las células T

La naturaleza específica de antígeno de las inmunorreacciones de las células T implica con claridad que éstas poseen un receptor específico de antígeno con restricción clonal. Sin embargo, la identidad de este receptor se desconoció durante mucho tiempo después de que se identificó el receptor de la célula B (molécula de inmunoglobulina). Los resultados experimentales importantes eran contradictorios y difíciles de conceptuar dentro de un modelo único porque el receptor de célula T (TCR, del inglés *T-cell receptor*) difiere del receptor de unión a antígeno de la célula B de manera importante. Primero, el TCR está unido a la membrana y no aparece en una forma soluble como el receptor de célula B; por ello resultó complicado valorar su estructura por métodos bioquímicos clásicos y se requirieron valoraciones celulares complejas para determinar su especificidad. Segundo, la interacción del receptor de célula T con el antígeno para su unión es más débil que en el caso de los anticuerpos, por lo que requiere de ensayos más sensibles. Por último, casi todos los receptores de célula T son específicos no para el antígeno solo sino para el antígeno asociado con una molécula codificada por el complejo mayor de histocompatibilidad (MHC). Esta propiedad impidió la purificación del receptor de células T mediante técnicas simples de unión de antígeno y añade complejidad a cualquier sistema experimental diseñado para investigarlo.

Una combinación de manipulaciones inmunitarias, bioquímicas y biomoleculares superó estos problemas. Se encontró que la molécula que tiene a su cargo la especificidad de las células T es un heterodímero compuesto de dos cadenas: α y β o γ y δ. Se descubrió que la organización genómica de las familias génicas para el receptor de célula T y los medios por los cuales se genera la diversidad de las cadenas componentes que se asemejan a los de las cadenas del receptor de célula B. Más aún, el receptor de célula T se relaciona en la membrana con un complejo transductor de señales de múltiples componentes: el CD3, cuya función es similar a la del complejo Ig-α/Ig-β del receptor de célula B.

En estudios recientes se han obtenido nuevos e importantes indicios acerca de los receptores de célula T, por ejemplo la nueva percepción de las principales diferencias entre células que portan un receptor consistente en cadenas α y β y las que tienen cadenas γ y δ. El TCR αβ, al igual que los anticuerpos, se caracteriza por su alto grado de especificidad y por tanto se considera una molécula emblemática del sistema inmunitario adaptativo. En contraste, al parecer determinados receptores en las células T γδ reconocen clases de antígenos presentes en grupos de patógenos, de modo que participan de manera más consistente en la inmunidad innata.

Investigaciones estructurales mediante cristalografía con rayos X han revelado diferencias en el modo en que los TCR αβ se unen a antígenos presentados por moléculas MHC clase I en oposición a la clase II, y han aportado indicios sobre el modo en que los TCR γδ reconocen determinados antígenos en su forma nativa. En este capítulo se explora la naturaleza de las moléculas del receptor de célula T y los genes que las codifican, y se analiza la manera en que los TCR reconocen antígenos extraños y propios.

Primeros estudios sobre el receptor de célula T

Aunque hacia el inicio del decenio de 1980 los investigadores ya sabían mucho acerca de la función de la célula T, sus intentos de identificar y aislar su receptor de unión a antígeno resultaban frustrantes. La similitud obvia entre las funciones de reconocimiento de las células T y B estimuló un gran cúmulo de esfuerzos experimentales a fin de aprovechar las similitudes estructurales anticipadas entre las inmunoglobulinas y los receptores de células T. En informes publicados en el decenio de 1970 se anunciaba el descubrimiento de isotipos de inmunoglobulina relacionados de modo exclusivo con células T (IgT) y antisueros que reconocían marcadores de región variable (idiotipo) comunes a anticuerpos y receptores de célula T con especificidad similar. No fue posible reproducir estos experimentos, y se comprobó que no eran correctos cuando se demostró que el receptor de célula T y las inmunoglobulinas no comparten elementos de reconocimiento y que son codificados por familias de genes completamente distintas. Como se demuestra en las secciones siguientes, se requirió una secuencia de experimentos bien diseñados con la tecnología más reciente para responder de manera correcta las preguntas respecto a la estructura del receptor de célula T, los genes que lo codifican y la forma en que reconoce antígeno.

Experimentos clásicos demostraron la restricción del receptor de célula T al MHC propio

A principios del decenio de 1970 los inmunólogos sabían cómo generar linfocitos T citotóxicos (CTL) específicos para células blanco infectadas con virus. Por ejemplo, al infectar ratones con virus de la coriomeningitis linfocítica (LCM) produjeron CTL que podían lisar células blanco infectadas con LCM in vitro. No obstante, estos mismos CTL no fijaron virus de LCM libres ni antígenos víricos. ¿Por qué los CTL no se unieron al virus o a antígenos víricos directamente como lo hacían las inmunoglobulinas? La respuesta comenzó a surgir en los experimentos clásicos de R. M. Zinkernagel y P. C. Doherty en 1974 (fig. 8-15). Tales estudios demostraron que el reconocimiento de antígeno por células T es específico no para el antígeno vírico solo sino para el antígeno asociado con una molécula MHC (fig. 9-1). Se demostró que las células T sólo reconocen antígeno cuando una molécula MHC propia los presenta en la membrana de una célula. Este atributo, denominado *restricción a MHC propio*, diferencia el reconocimiento de antígeno por células T y células B. En 1996, Zinkernagel y Doherty recibieron el premio Nobel por este trabajo.

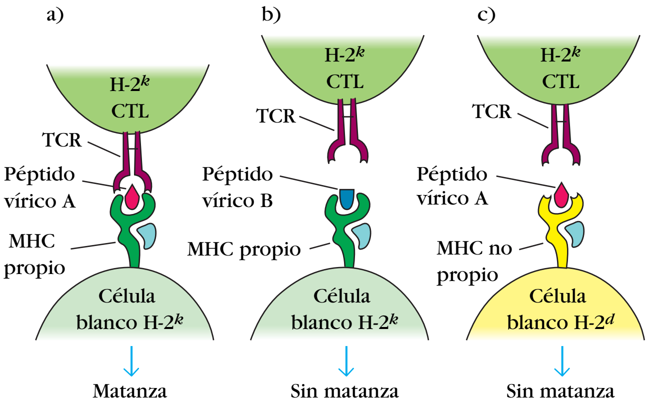


FIGURA 9-1 Restricción del receptor de célula T (TCR) a MHC propio. Un TCR particular es específico tanto para el péptido antigénico como para una molécula MHC propia. En este ejemplo, el CTL H-2^{k} es específico para el péptido vírico A presentado en una célula blanco H-2^{k} (a). El reconocimiento de antígeno no ocurre cuando el péptido B se exhibe en una célula blanco H-2^{k} (b) ni cuando el péptido A se exhibe en una célula blanco H-2^{d} (c).

Se propusieron dos modelos para explicar la restricción a MHC del receptor de célula T. El *modelo de doble receptor* proponía una célula T con dos receptores distintos, uno para antígeno y otro para moléculas MHC clase I o clase II. El *modelo de identidad alterada* postulaba que un receptor único reconoce una alteración en las moléculas MHC propias inducida por su vinculación con antígenos extraños. El debate entre quienes proponían estos dos modelos se mantuvo durante algunos años hasta que un elegante experimento de J. Kappler y P. Marrack demostró que la especificidad para MHC y antígeno reside en un receptor único. Desde entonces se ha acumulado una cantidad abrumadora de datos estructurales y funcionales en apoyo del modelo de identidad alterada.

El uso de anticuerpos clonotípicos permitió aislar receptores de célula T

La identificación y el aislamiento del receptor de célula T se logró mediante la producción de gran número de anticuerpos monoclonales contra diversas clonas de células T y la posterior selección de los anticuerpos a fin de encontrar uno que fuera específico de clona, o *clonotípico.* En este método se supone que como el receptor de célula T es específico tanto para antígeno como para una molécula MHC, debe haber diferencias estructurales importantes de una clona a otra en el receptor; cada clona de células T debe tener un marcador antigénico similar a los marcadores de idiotipo que caracterizan a los anticuerpos monoclonales. Con este método, al inicio del decenio de 1980 los investigadores aislaron el receptor y encontraron que era un heterodímero constituido por cadenas α y β.

Cuando se elaboraron antisueros con un heterodímero αβ aislado de membranas de varias clonas de células T, algunos antisueros se unieron a heterodímeros αβ de todas las clonas, en tanto que otros antisueros fueron específicos de clonas. Este descubrimiento sugirió que las secuencias de aminoácidos de las cadenas α y β del TCR, como en las cadenas pesadas y ligeras de la inmunoglobulina, tenían regiones constantes y variables identificables por medio de anticuerpos que reconocen determinantes isotípicos o idiotípicos. Después se identificó un segundo tipo de heterodímero de TCR que consistía en cadenas δ y γ. En el ser humano y el ratón, la mayor parte de las células T expresan el heterodímero αβ; las células T restantes expresan el heterodímero αβ. Como se describe más adelante, la proporción exacta de células T que expresan TCR αβ o γδ difiere por órgano y especie, pero en condiciones normales predominan las células T αβ. En virtud de la predominancia de células que portan el TCR αβ y la mayor cantidad de información disponible para ellas, en las exposiciones que siguen del receptor de célula T se supondrá que se hace referencia al tipo αβ si no se indica otra cosa.

El gen de la cadena β del TCR se clonó mediante hibridación sustractiva

Con objeto de identificar y aislar los genes del TCR, S. M. Hedrick y M. M. Davis buscaron aislar el mRNA que codifica las cadenas α y β de una clona de células T_H. La labor no fue fácil porque el mRNA del receptor sólo representa una fracción mínima del mRNA total de la célula. En contraste, en las células plasmáticas la inmunoglobulina es un producto mayor secretado por las células, y los mRNA que codifican las cadenas pesada y ligera son abundantes y fáciles de purificar.

En el exitoso esquema de Hedrick y Davis se suponía que el mRNA del TCR, como los mRNA que codifican otras proteínas integrales de la membrana, se vincularía con polirribosomas unidos a la membrana en lugar de ribosomas citoplásmicos libres. Por consiguiente aislaron el mRNA polirribosómico unido a la membrana de una clona de células T_H y emplearon inversotranscriptasa para sintetizar sondas de cDNA marcadas con ^{32}P (fig. 9-2). Ya que sólo 3% del mRNA de los linfocitos se encuentra en la fracción polirribosómica unida a la membrana, esta etapa eliminó 97% del mRNA celular.

A continuación Hedrick y Davis usaron una técnica llamada *hibridación sustractiva de DNA* para eliminar de su preparado el cDNA [^{32}P] que no era único para las células T. Su justificación para esta etapa se basó en las mediciones iniciales de Davis que mostraron que las células B y T comparten 98% de los genes expresados en linfocitos. El restante 2% de los genes expresados, que es exclusivo de las células T, debe incluir los genes que codifican el receptor de célula T. Por tanto, mediante la hibridación del mRNA de célula B con su cDNA de célula T_H marcado con ^{32}P pudieron eliminar o sustraer todo el cDNA que era común a las células B y T. Se suponía que el cDNA marcado con ^{32}P no hibridado que permanecía después de esta etapa representaba el mRNA polirribosómico expresado el cual era exclusivo de la clona de células T_H, incluyendo el mRNA que codifica para su receptor de célula T.

La clonación del cDNA marcado con ^{32}P no hibridado generó una biblioteca en la que se identificaron 10 diferentes clonas de cDNA. A fin de determinar cuál de estas clonas de cDNA específicas de célula T representaba al receptor de célula T, todas se utilizaron como sondas para buscar genes que se reordenaran en células T maduras. Este enfoque se basó en la suposición de que, como al parecer el receptor de célula T αβ tenía regiones constantes y variables, sus genes debían experimentar reordenamientos de DNA como los observados en los genes para las Ig de las células B. Los dos investigadores probaron el DNA de células T, células B, células hepáticas y macrófagos mediante la prueba de Southern blot empleando las 10 sondas de cDNA marcado con ^{32}P a fin de identificar secuencias genómicas únicas de DNA de célula T. Una clona mostró bandas que indicaban reordenamiento del DNA en células T pero no en los otros tipos de células. Esta sonda de cDNA identificó seis patrones diferentes para el DNA de seis distintas líneas de células T maduras (fig. 9-2, recuadro, parte superior). Es posible que estos patrones diferentes representaran genes de TCR reordenados.

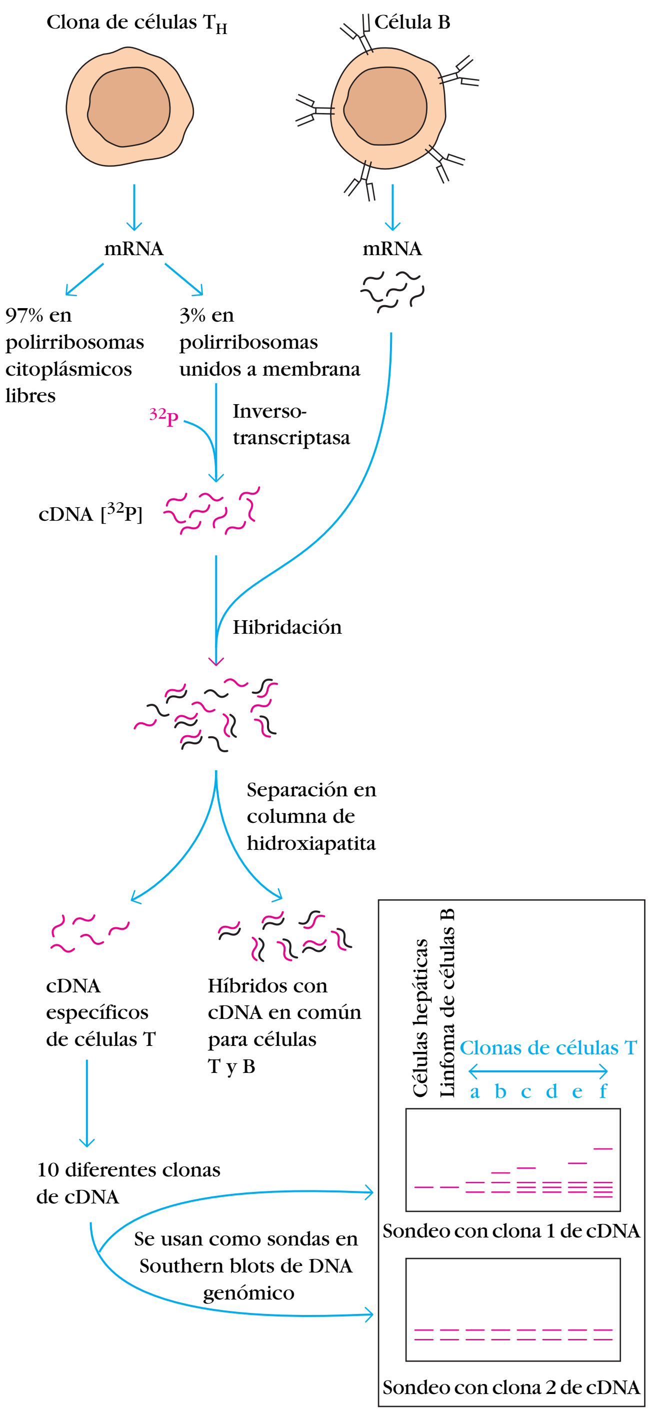

Clona de células T_H
Célula B
mRNA
mRNA
97% en polirribosomas citoplásmicos libres
3% en polirribosomas unidos a membrana
^{32}P
Inverso-transcriptasa
cDNA [^{32}P]
Hibridación
Separación en columna de hidroxiapatita
cDNA específicos de células T
Híbridos con cDNA en común para células T y B
10 diferentes clonas de cDNA
Se usan como sondas en Southern blots de DNA genómico
Células hepáticas
Linfoma de células B
Clonas de células T
a b c d e f
Sondeo con clona 1 de cDNA
Sondeo con clona 2 de cDNA

FIGURA 9-2 Producción e identificación de una clona de cDNA que codifica el receptor de célula T. El diagrama de flujo delinea el procedimiento usado por S. M. Hedrick y M. M. Davis para obtener clonas de cDNA [^{32}P] correspondientes a mRNA específicos de célula T. La técnica de hibridación sustractiva de DNA les permitió aislar cDNA [^{32}P] exclusivo de la célula T. Las clonas de cDNA de célula T_H se usaron como sondas *(recuadro)* en análisis Southern blot de DNA genómico de células hepáticas, células de linfoma de células B, y seis diferentes clonas de células T_H (a-f). El sondeo con la clona 1 de cDNA produjo un patrón bien definido de transferencia (blot) para cada clona de células T, mientras que el sondeo con la clona 2 de cDNA no lo hizo. Cuando se supuso que las células hepáticas y B contenían DNA de TCR de la línea germinal no reordenado y que cada una de las clonas de células T contenía diferentes genes de TCR reordenados, los resultados con el uso de la clona 1 de cDNA como sonda identificaron la clona 1 como el gen del receptor de célula T. El cDNA de la clona 2 identificó el gen para otra molécula de membrana de la célula T codificada por DNA que no experimentaba reordenamiento. *[Basada en S. Hedrick et al., 1984,* Nature ***308:****149.]*

Cabría esperar estos resultados si los genes de TCR reordenados sólo se presentaran en células T maduras. La observación de que cada una de las líneas de células T mostraba diferentes patrones Southern blot fue compatible con las diferencias predichas en la especificidad de TCR de cada línea de células T.

La clona 1 de cDNA identificada mediante la prueba de Southern-blot que se muestra en la figura 9-2 tiene todas las características distintivas de un posible gen de TCR: representa una secuencia génica que se reordena, se expresa como una proteína unida a membrana y sólo se expresa en células T. Se encontró que esta clona de cDNA codificaba la cadena β del receptor de célula T. Luego se identificaron clonas de cDNA que codificaban la cadena α, la cadena γ y por último la cadena δ. Estos descubrimientos abrieron el camino para comprender el receptor de célula T e hicieron posible estudios estructurales y funcionales subsecuentes.

Receptores de célula T αβ y γδ: estructuras y funciones

Las estructuras de dominio de los heterodímeros αβ y γδ del TCR son extraordinariamente similares a las de las inmunoglobulinas; por ello se clasifican como miembros de la superfamilia de inmunoglobulinas (fig. 4-24). Cada cadena de un TCR tiene dos dominios que contienen un enlace disulfuro intracatenario que abarca 60 a 75 aminoácidos. El dominio amino terminal de ambas cadenas muestra una variación de secuencia notable, pero las secuencias del resto de cada cadena se conservan. Por tanto, los dominios del TCR —uno variable (V) y uno constante (C)— son homólogos en estructura a los dominios V y C de las inmunoglobulinas, y la molécula de TCR semeja un fragmento Fab unido a la membrana celular y no a la región constante de una molécula de Ig (fig. 9-3). Los dominios variables del TCR tienen tres regiones hipervariables, que al parecer equivalen a las regiones determinantes de complementariedad (CDR) en las cadenas ligera y pesada de la inmunoglobulina.

Además del dominio constante, cada cadena de TCR contiene una secuencia conectora corta, en la que un residuo de cisteína forma un enlace disulfuro con la otra cadena del heterodímero. Después de la región de conexión se encuentra una región transmembranal de 21 o 22 aminoácidos que fija cada cadena en la membrana plasmática. Los dominios transmembranales de ambas cadenas son peculiares en el sentido de que contienen aminoácidos con carga positiva. Como se verá más adelante, estos residuos promueven la interacción entre las cadenas del heterodímero del TCR y cadenas del complejo CD3 de transducción de señales. Por último, cada una de las cadenas de TCR contiene una cola citoplásmica corta de cinco a 12 aminoácidos en el extremo carboxilo terminal.

Al inicio fue difícil investigar los receptores de célula T αβ y γδ porque, como todas las proteínas transmembranales, son insolubles. Este problema se superó mediante la expresión de formas modificadas de la proteína in vitro sometidas a ingeniería para incluir codones de detención prematura dentro del marco lo cual impide la traducción de la secuencia de unión a membrana que hace que la molécula sea insoluble.

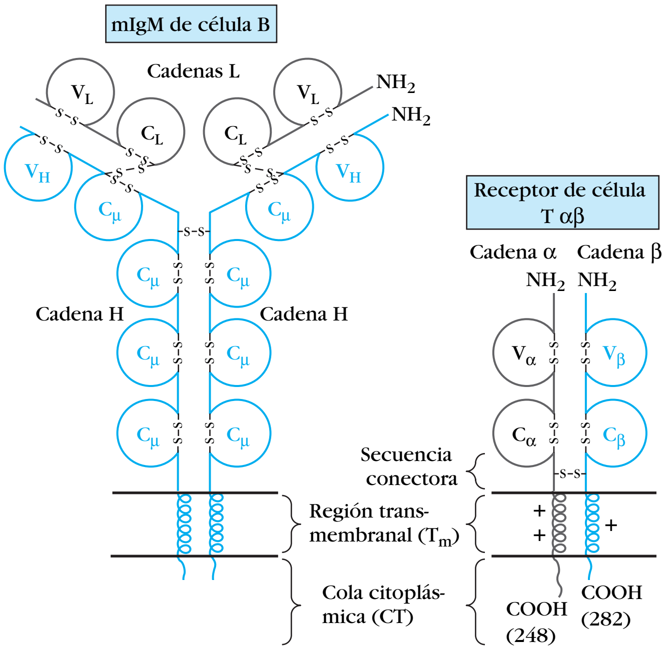


FIGURA 9-3 Diagrama esquemático que ilustra la similitud estructural entre el receptor de célula T αβ y la IgM unida a membrana en las células T. La cadena α y la β del TCR contienen cada una dos dominios con la estructura plegada de la inmunoglobulina. Los dominios amino terminal (V_α y V_β) exhiben variación de secuencia y contienen tres regiones hipervariables equivalentes a las CDR en los anticuerpos. La secuencia de los dominios constantes (C_α y C_β) no varía. Las dos cadenas del TCR están conectadas por un enlace disulfuro entre sus secuencias constantes; las cadenas H de la IgM están conectadas entre sí por un enlace disulfuro en la región de bisagra de la cadena H, y las cadenas L están conectadas con las cadenas H por enlaces disulfuro entre los extremos C de las cadenas L y la región C_μ. Las moléculas del TCR interactúan con CD3 vía residuos con carga positiva (indicados por el signo +) en sus regiones transmembranales. Los números indican la longitud de las cadenas en la molécula de TCR. A diferencia de la molécula de anticuerpo, que es bivalente, el TCR es monovalente.

La mayor parte de las células T del ser humano y el ratón expresa receptores de célula T codificados por los genes para las cadenas αβ. Estos receptores interactúan con antígenos peptídicos procesados y presentados en la superficie de las células presentadoras de antígeno. Las indicaciones iniciales de que ciertas células reaccionaban con antígenos *no peptídicos* fue desconcertante hasta que se tuvo alguna luz respecto al problema cuando se encontró que productos de la familia CD1 de genes presentan antígenos no peptídicos, como glucolípidos y fosfolípidos. En fecha más reciente se observó que ciertas células γδ reaccionan con antígenos proteínicos que no se procesan ni presentan en el contexto de moléculas MHC.

Aunque se anticipaban diferencias en las regiones de unión de antígeno de los TCR αβ y γδ en virtud de los distintos antígenos que reconocían, no se esperaba que fueran extremas. Sin embargo, la estructura tridimensional de un receptor γδ que reacciona con un antígeno fosfolípido, publicada por Tim Allison, Dave Garboczi y colaboradores, revela diferencias significativas

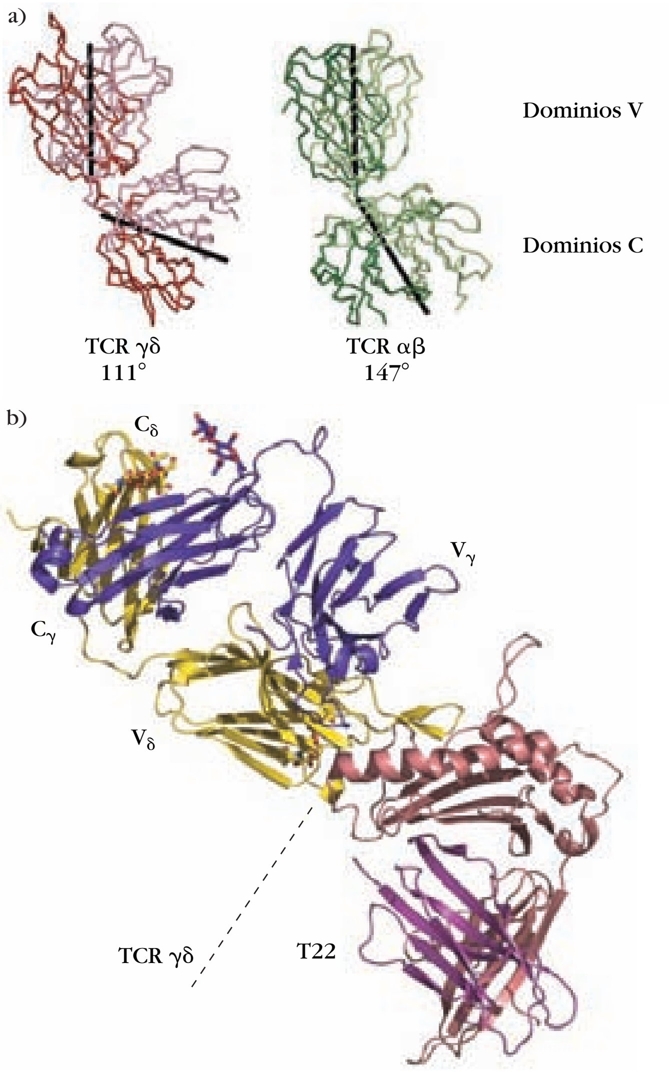


FIGURA 9-4 Comparación de las estructuras cristalinas del TCR γδ y el TCR αβ. a) Molécula γδ humana; se muestra la diferencia (resaltada con líneas negras) en el ángulo del codo comparado con el correspondiente a la αβ. b) El TCR γδ G8 murino en complejo con la molécula MHC no clásica T22. Esta unión ocurre independientemente del sitio del unión al péptido de T22. Nótese el modo en que la unión implica principalmente contacto con la CDR3 de la cadena δ del receptor. *[Parte a de T. Allison et. al., 2001,* Nature ***411:****820; parte b de E. J. Adams et al., 2005,* Science ***308:****227.]*

en las estructuras globales de los dos tipos de receptor, lo que apunta a posibles diferencias funcionales. El receptor que estudiaron era un dímero de cadenas γ y δ (γ9 y δ2), que son las que se expresan con mayor frecuencia en la sangre periférica humana. Una hendidura profunda en la superficie de la molécula da cabida al fosfolípido microbiano para el que el receptor γδ es específico. Este antígeno es reconocido sin presentación por el MHC.

La característica más notable de la estructura es el modo en que difiere del receptor αβ en la orientación de sus regiones V y C. El llamado ángulo del codo entre los ejes largos de las regiones V y C del TCR γδ tiene 111°; el ángulo del codo del TCR αβ es de 147° y proporciona a las moléculas formas distintas (fig. 9-4a). La importancia plena de esta distinción se desconoce, pero tal vez contribuya a diferencias en los mecanismos de señalización y el modo en que las moléculas interactúan con moléculas correceptoras.

Una estructura determinada en fecha más reciente por cristalografía de rayos X por Garcia y colaboradores para un receptor γδ murino en complejo con una molécula MHC clase I no clásica denominada T22 indica que el receptor γδ se une directamente a T22, sin requerir la presencia de un antígeno peptídico (fig. 9-4b). Además, usando resonancia de plasmones superficiales (cap. 6), esos investigadores demostraron que la unión ente el TCR γδ y T22 era bastante fuerte ($K_\mathrm{d} =$ 0.10 M). La estructura del complejo reveló que el principal contacto entre el antígeno y el TCR γδ implicaba el asa CDR3 de la cadena δ. En la interacción entre TCR αβ y antígeno, la CDR3 establece el contacto primario con el péptido antigénico presentado por moléculas MHC; las asas CDR1 y 2 interactúan con características superficiales conservadas de la molécula MHC. En la interacción entre TCR γδ y T22, la CDR3 una vez más establece el mayor contacto con antígeno, pero el contacto no es con un péptido presentado dentro de una molécula MHC sino con un sitio fuera de la región de unión con péptido de la molécula MHC no clásica (T22) misma. Este reconocimiento de la molécula T22 en ausencia de un péptido presentado sugiere que el receptor γδ es más similar a los receptores de reconocimiento de patrón (PRR; cap 3) que al receptor αβ.

Mientras que las células T αβ reconocen al antígeno procesado y presentado en el contexto de una molécula MHC, un cuerpo de datos creciente indica que las células T γδ no requieren del procesamiento ni de la presentación por MHC para el reconocimiento de antígeno. Aún se desconocen las funciones precisas de las células T γδ, y queda por dilucidar su papel en la inmunidad a patógenos extraños y su posible participación en la autoinmunidad. El reconocimiento de antígenos comunes a distintas clases de microorganismos, así como la capacidad de los TCR γδ de unirse a moléculas MHC propias no clásicas, como se describió antes, sugieren un papel de reacción rápida más característico de la inmunidad innata que de la adaptativa.

La cifra de células T γδ en la circulación es pequeña si se compara con las células que tienen receptores αβ, y los segmentos génicos V de los receptores γδ muestran diversidad limitada. Como se observa en los datos del cuadro 9-1, la mayor parte de las células γδ son negativas tanto para CD4 como para CD8 y casi todas expresan el mismo par de cadenas γδ. El receptor predominante que se expresa en las células γδ circulantes del ser humano reconoce un antígeno fosfolípido microbiano, 3-formil-1-butil-pirofosfato, que se encuentra en *M. tuberculosis* y otras bacterias y parásitos. Esta especificidad para patógenos que se encuentran a menudo llevó a pensar que las células γδ pueden funcionar como un brazo de la respuesta inmunitaria innata, que permite la reactividad rápida a ciertos antígenos sin necesidad de una etapa de procesamiento. Como hecho interesante, la especificidad de las células γδ circulantes del ratón y otras especies estudiadas no es similar a la del ser humano, lo que sugiere que la respuesta γδ puede dirigirse contra patógenos que una especie determinada suele enfrentar. En determinados tipos de infecciones, el porcentaje de células T γδ en la sangre o en un órgano específico puede aumentar de manera impresionante. Diversas infecciones bacterianas, incluyendo algunas muy

CUADRO 9-1 Comparación de células T αβ y γδ en sangre periférica

Característica	Células T αβ	Células T γδ
Proporción de células $CD3^+$	90 a 99%	1 a 10%
Repertorio de la línea germinal del gen V de TCR	Grande	Pequeño
Fenotipo CD4/CD8		
$CD4^+$	~60%	<1%
$CD8^+$	~30%	~30%
$CD4^+ CD8^+$	<1%	<1%
$CD4^- CD8^-$	<1%	~60%
Restricción a MHC	$CD4^+$: MHC clase II $CD8^+$: MHC clase I	Sin restricción de MHC
Ligandos	MHC + antígeno peptídico	Fosfolípido, proteína intacta

FUENTE: D. Kabelitz et al., 1999, *Springer Seminars in Immunopathology* **21**(55): 36.

comunes como las causadas por *M. tuberculosis* y *Hemophilus influenzae*, así como las parasitosis paludismo y leishmaniasis, inducen altas cantidades de células γδ. Estas células son capaces de destruir células infectadas o microorganismos mediante mecanismos similares a los propios de los CTL (granulisina y perforina; cap. 14). Datos adicionales implican a las células γδ en trastornos autoinmunitarios crónicos, como lupus, miositis y esclerosis múltiple. Más aún, los datos indicativos de que las células γδ pueden secretar una variedad de citocinas sugieren que es posible que desempeñen una función reguladora en la incorporación de células T αβ al sitio de invasión por patógenos. Las células T αβ incorporadas mostrarían un espectro amplio de receptores; las que tuvieran la afinidad más alta para combatir al patógeno se activarían y amplificarían de manera selectiva.

Las funciones y los mecanismos de acción de las células T γδ constituyen un campo de activa investigación, y aún queda mucho por aprender. De especial interés es un perfil más preciso de la gama de antígenos que pueden ser reconocidos por el receptor γδ y si éste es capaz de reconocer antígeno en el contexto de moléculas MHC no clásicas. Estudios recientes también sugieren que las células γδ pueden servir por sí mismas como células presentadoras de antígeno (APC), con lo que ampliarían en gran medida su potencial funcional.

Organización y reordenamiento de los genes del TCR

Los genes que codifican los receptores de célula T αβ y γδ sólo se expresan en células del linaje de la célula T. Los cuatro loci del TCR (α, β, γ y δ) están dispuestos en la línea germinal en una forma notablemente similar a la organización multigénica de los genes de inmunoglobulina (Ig) (fig. 9-5). Como se observa en éstos, los genes del TCR funcional se producen por reordenamientos de los segmentos V y J en las familias de cadena α y cadena γ, y en los segmentos V, D, y J en las familias de cadena β y cadena δ. En el ratón, los segmentos génicos de las cadenas α, β y γ se ubican en los cromosomas 14, 6 y 13, respectivamente. Los segmentos del gen δ se encuentran en el cromosoma 14 entre los segmentos V_α y J_α. La localización de la familia de

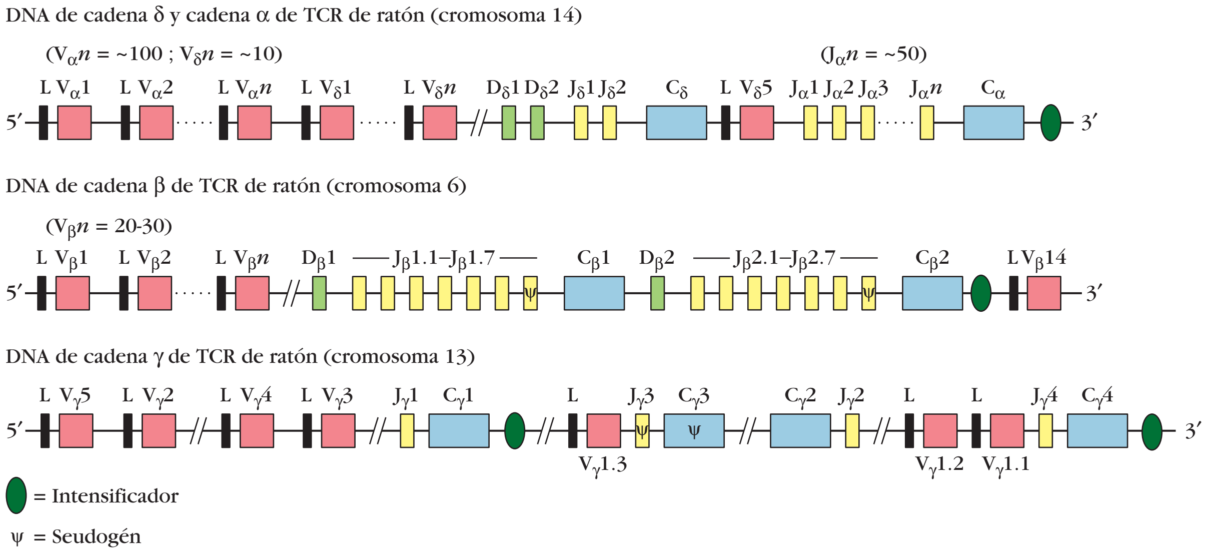

DNA de cadena δ y cadena α de TCR de ratón (cromosoma 14)
($V_\alpha n$ = ~100 ; $V_\delta n$ = ~10)
($J_\alpha n$ = ~50)
L $V_\alpha 1$
L $V_\alpha 2$
L $V_\alpha n$
L $V_\delta 1$
L $V_\delta n$
$D_\delta 1$ $D_\delta 2$ $J_\delta 1$ $J_\delta 2$
C_δ
L $V_\delta 5$
$J_\alpha 1$ $J_\alpha 2$ $J_\alpha 3$
$J_\alpha n$
C_α
5′
3′
DNA de cadena β de TCR de ratón (cromosoma 6)
($V_\beta n$ = 20-30)
L $V_\beta 1$
L $V_\beta 2$
L $V_\beta n$
$D_\beta 1$
$J_\beta 1.1$–$J_\beta 1.7$
$C_\beta 1$
$D_\beta 2$
$J_\beta 2.1$–$J_\beta 2.7$
$C_\beta 2$
L $V_\beta 14$
ψ
ψ
5′
3′
DNA de cadena γ de TCR de ratón (cromosoma 13)
L $V_\gamma 5$
L $V_\gamma 2$
L $V_\gamma 4$
L $V_\gamma 3$
$J_\gamma 1$
$C_\gamma 1$
L
$J_\gamma 3$
$C_\gamma 3$
$C_\gamma 2$
$J_\gamma 2$
L
L
$J_\gamma 4$
$C_\gamma 4$
ψ
ψ
$V_\gamma 1.3$
$V_\gamma 1.2$
$V_\gamma 1.1$
5′
3′
= Intensificador
ψ = Seudogén

FIGURA 9-5 Organización de la línea germinal de los segmentos génicos de las cadenas α, β, γ y δ de TCR de ratón. Cada segmento génico C se compone de una serie de exones e intrones, que no se muestran. La organización de los segmentos génicos de TCR en el ser humano es similar, aunque el número de los diversos segmentos génicos difiere en algunos casos (cuadro 9-2). Las cantidades de segmentos génicos que se indican aquí son promedios para diferentes cepas murinas e incluyen seudogenes. *[Adaptada de D. Raulet, 1989,* Annual Review of Immunology ***7**:175, y M. Davis, 1990,* Annual Review of Biochemistry ***59**:475.]*

CUADRO 9-2 Familias multigénicas de TCR en el ser humano

		NÚM. DE SEGMENTOS GÉNICOS*			
Gen	**Localización cromosómica**	**V**	**D**	**J**	**C**
Cadena α	14	54		61	1
Cadena δ[†]	14	3	3	3	1
Cadena β[‡]	7	67	2	14	2
Cadena γ[§]	7	14		5	2

*No todos los segmentos génicos enumerados aquí dan origen a productos de TCR; se incluyen seudogenes.

[†] Los segmentos génicos de la cadena δ se localizan entre los segmentos V_α y J_α.

[‡] Hay dos repeticiones: cada una contiene 1 D_β, 6 o 7 J_β y 1 C_β.

[§] Hay dos repeticiones: cada una contiene 2 o 3 J_γ y 1 C_γ.

FUENTE: Datos de Immunogenetics Database, http://imgt.cines.fr

genes de la cadena δ es importante: un reordenamiento productivo de los segmentos génicos de la cadena α elimina C_δ, de manera que, en una célula T determinada, el receptor TCR αβ no puede coexpresarse con el receptor γδ. Este decisivo compromiso de linaje es importante a la luz de la diferencia de funciones entre las células T αβ y las γδ.

El DNA de la línea germinal de ratón contiene alrededor de 80 segmentos génicos V_α, 40 J_α y un segmento C_α único. La familia del gen de cadena δ incluye cerca de 10 segmentos génicos V, que son en gran parte distintos de los segmentos génicos V_α, aunque se observa cierto reordenamiento de segmentos V en los genes de cadenas α y δ. Asimismo se identifican dos segmentos génicos D_δ, dos J_δ y un segmento C_δ. La familia del gen de cadena β tiene 20 a 30 segmentos génicos V y dos repeticiones casi idénticas de segmentos D, J y C; cada repetición consiste en un D_β, seis J_β y un C_β. La familia de genes de la cadena γ consiste en siete segmentos V_γ y tres repeticiones J_γ-C_γ funcionales distintas. Por lo general la organización de las familias multigénicas de TCR en seres humanos es similar a la del ratón, aunque difiere en el número de segmentos (cuadro 9-2). En todos los casos, las familias génicas pueden incluir miembros con mutaciones que los hacen no funcionales (seudogenes); estos genes normalmente se incluyen en el recuento de genes de la familia a menos que se especifique que se trata de genes *funcionales*. Por ejemplo, en el cuadro 9-3 se presentan sólo genes funcionales, porque los seudogenes no contribuyen a la diversidad, mientras que la figura 9-5 incluye todos los genes de la línea germinal.

Los genes de la región variable del TCR se reordenan de manera similar a los genes de anticuerpo

La cadena α, como la cadena L de la inmunoglobulina, es codificada por segmentos génicos V, J y C. La cadena β, como la

CUADRO 9-3 Fuentes de posible diversidad de los genes de inmunoglobulina y TCR en el ratón

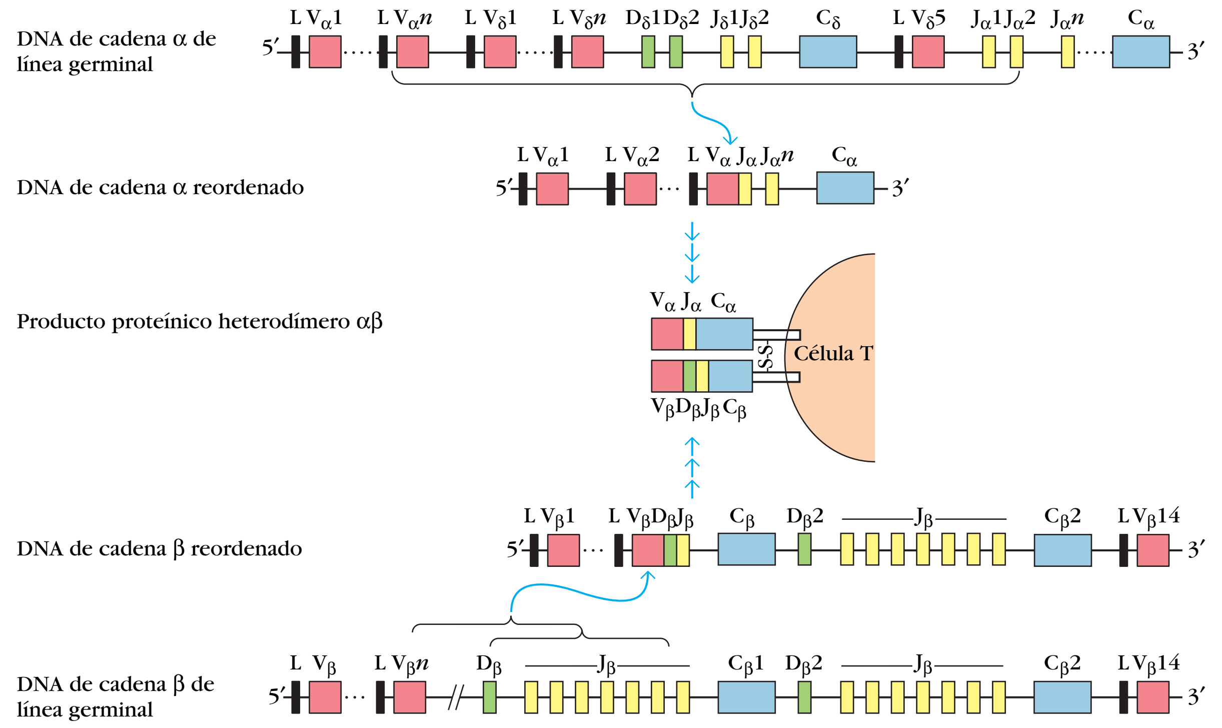
	INMUNOGLOBULINAS		RECEPTOR DE CÉLULA T $\alpha\beta$		RECEPTOR DE CÉLULA T $\gamma\delta$	
Mecanismo de diversidad	**Cadena H**	**Cadena κ**	**Cadena α**	**Cadena β**	**Cadena γ**	**Cadena δ**
	NÚMERO ESTIMADO DE SEGMENTOS GÉNICOS FUNCIONALES*					
V	101	85	79	21	7	6
D	13	0	0	2	0	2
J	4	4	38	11	3	2
	POSIBLE NÚMERO DE COMBINACIONES[†]					
Unión VJ y VDJ combinatoria	$101 \times 13 \times 4$ 5.3×10^3	85×4 3.4×10^2	79×38 3.0×10^3	$21 \times 2 \times 11$ 4.6×10^2	7×3 21	$6 \times 2 \times 2$ 24
Unión alterna de segmentos génicos D	−	−	−	+ (algunos)	−	+ (con frecuencia)
Flexibilidad de unión	+	+	+	+	+	+
Adición de nucleótido de región N[‡]	+	−	+	+	+	+
Adición de nucleótido de región P	+	+	+	+	+	+
Mutación somática	+	+	−	−	−	−
Unión combinatoria de cadenas	+		+		+	

*Datos para la inmunoglobulina del cuadro 5-2; datos para el TCR de Baum et al., 2004, *Nucleic Acids Research* **32**:D51.

[†] Un signo más (+) indica que el mecanismo hace una contribución significativa a la diversidad pero en un grado que se desconoce. Un signo menos (−) significa que el mecanismo no opera.

[‡] Véase en la figura 9-8d la cifra teórica de combinaciones generadas por la adición de región N.

FIGURA 9-6 PARA VISUALIZACIÓN DE CONCEPTOS: Ejemplo de reordenamientos génicos que producen un gen funcional que codifica el receptor de célula T $\alpha\beta$


DNA de cadena α de línea germinal
5′
L Vα1
L Vαn
L Vδ1
L Vδn
Dδ1Dδ2
Jδ1Jδ2
Cδ
L Vδ5
Jα1Jα2
Jαn
Cα
3′
DNA de cadena α reordenado
5′
L Vα1
L Vα2
L Vα Jα Jαn
Cα
3′
Producto proteínico heterodímero αβ
Vα Jα Cα
S-S
Célula T
VβDβJβCβ
DNA de cadena β reordenado
5′
L Vβ1
L VβDβJβ
Cβ
Dβ2
Jβ
Cβ2
L Vβ14
3′
DNA de cadena β de línea germinal
5′
L Vβ
L Vβn
Dβ
Jβ
Cβ1
Dβ2
Jβ
Cβ2
L Vβ14
3′

EL DNA de la cadena β, análogo al DNA de la cadena ligera de la inmunoglobulina, experimenta una unión V_α-J_α en la región variable. El DNA de la cadena β, análogo al DNA de la cadena pesada de la inmunoglobulina, se somete a dos uniones de región variable: primero D_β a J_β y después V_β a $D_\beta J_\beta$. La transcripción de los genes reordenados produce transcritos primarios que se procesan para formar mRNA que codifican las cadenas α y β del TCR unido a la membrana. La secuencia líder se escinde de la cadena polipeptídica naciente y no se encuentra en la proteína terminada. Como no se produce TCR secretado, el procesamiento diferencial de los transcritos primarios no ocurre. Aunque el DNA de la cadena β contiene dos genes C, los productos génicos de estos dos genes C no muestran diferencias funcionales conocidas. Los genes C están compuestos por varios exones e intrones, que no se muestran individualmente en la figura (fig. 9-7).

cadena H de la inmunoglobulina, es codificada por segmentos génicos V, D, J y C. El reordenamiento de los segmentos génicos de cadena α y cadena β del TCR conduce a la unión VJ para la cadena α y la unión VDJ para la cadena β (fig. 9-6).

Después de la transcripción de los genes de TCR reordenados, el procesamiento de RNA y la traslación, las cadenas α y β se expresan como un heterodímero con enlace disulfuro en la membrana de la célula T. A diferencia de las inmunoglobulinas, que pueden unirse a membrana o secretarse, el heterodímero $\alpha\beta$ sólo se expresa en una forma unida a membrana; por consiguiente, no existe un procesamiento diferencial del RNA para producir las formas de membrana y secretada. Cada región constante del TCR incluye un dominio constante, una secuencia conectora, una secuencia transmembranal y una secuencia citoplásmica.

El DNA de la línea germinal que codifica las regiones constantes de las cadenas α y β del TCR es mucho más sencillo que el DNA de la línea germinal de la cadena pesada de la inmunoglobulina, que tiene múltiples segmentos génicos C que codifican distintos isotipos con diferentes funciones efectoras. El DNA de la cadena α del TCR sólo tiene un segmento génico C; el DNA de la cadena β tiene segmentos génicos J y C duplicados. Los productos proteínicos de los dos grupos sólo difieren en unos cuantos aminoácidos y no tienen distinciones funcionales conocidas.

Mecanismo de los reordenamientos del DNA del TCR

Al parecer los mecanismos por los que el DNA de la línea germinal del TCR se reordena para formar genes del receptor funcional son similares a los mecanismos de reordenamiento del gen de las inmunoglobulinas (Ig). Por ejemplo, a los lados de cada segmento génico V, D y J en el DNA de la línea germinal de TCR se identificaron secuencias señal de recombinación

(RSS) heptaméricas y nonaméricas conservadas, que contienen secuencias espaciadoras de 12 pb (un giro) o 23 pb (dos giros) (fig. 5-6). Todos los reordenamientos del gen de TCR siguen la regla de unión de un giro-dos giros que se observa en los genes de Ig, de manera que la recombinación sólo puede ocurrir entre dos tipos diferentes de RSS.

Como la célula pre-B, la célula pre-T expresa los genes activadores de recombinación (*RAG-1* y *RAG-2*). La enzima recombinasa RAG-1/2 reconoce las señales de reconocimiento heptaméricas y nonaméricas, y cataliza la unión V-J y V-D-J durante el reordenamiento del gen de TCR por los mismos mecanismos de eliminación o inversión que ocurren en los genes de Ig (fig. 5-7). Como se describe en el capítulo 5 para los genes de inmunoglobulina, RAG-1/2 comienza por introducir una muesca en una cadena de DNA entre las secuencias de codificación y de señal y procede a cortar asas de DNA formadas en el proceso. En timocitos se han identificado productos de escisión circulares que se piensa son generados por la formación de asa y la eliminación durante el reordenamiento del gen de TCR (fig. 5-8).

Estudios con ratones SCID, que carecen de células T y B funcionales, proporcionan pruebas de la similitud de los mecanismos de reordenamiento del gen de Ig y del gen de TCR. Como se explica en el capítulo 20, los ratones SCID tienen un defecto en un gen necesario para la reparación de roturas de DNA de doble cadena. Como resultado de este defecto, los segmentos génicos D y J no se unen durante el reordenamiento del DNA de Ig o de TCR (fig. 5-10). Esta observación sugiere que las mismas enzimas que reparan roturas de doble cadena participan en los reordenamientos V-D-J en células B y células T.

Aunque las células B y las T utilizan mecanismos muy similares para los reordenamientos génicos de región variable, en las células T no ocurre el reordenamiento completo de los genes de Ig, y en las células B no ocurre el reordenamiento completo de los genes de TCR. Además de que el sistema de la enzima recombinasa es regulado de modo diferente en cada linaje, la cromatina se reconfigura de manera exclusiva en las células B y T a fin de permitir el acceso de la recombinasa a los genes para receptor de antígeno específico apropiados. El reordenamiento de los segmentos génicos en las células T y B crea una secuencia de DNA única para esa célula y su progenie. El gran número de posibles configuraciones de los genes reordenados determina que esta nueva secuencia sea un marcador específico para la clona de células. Estas secuencias de DNA únicas se usan en el diagnóstico y tratamiento de leucemias linfoides y linfomas, cánceres que implican la proliferación clonal de células T o B (véase el enfoque clínico).

Exclusión alélica de los genes de TCR

Como ya se mencionó, los genes δ se localizan dentro del complejo génico α y experimentan deleción mediante reordenamientos de la cadena α. Este fenómeno constituye un modo irrevocable de exclusión de los genes δ localizados en el mismo cromosoma que los genes α en reordenamiento. La exclusión alélica de genes para las cadenas α y β del TCR también ocurre, pero se han observado excepciones.

La organización de los segmentos génicos J y C de la cadena β en dos grupos significa que, si ocurre un reordenamiento improductivo, el timocito puede intentar un segundo reordenamiento. Ello incrementa la posibilidad de un reordenamiento VJ productivo para la cadena β. Una vez que ocurre un reordenamiento productivo para el alelo de la cadena β, el reordenamiento del otro alelo β es inhibido.

Las excepciones a la exclusión alélica se observan con mayor frecuencia en los genes de cadena α del TCR. Por ejemplo, el análisis de clonas de células T que expresan un receptor de célula T αβ funcional reveló varias clonas con reordenamientos productivos de ambos alelos de la cadena α. Más aún, cuando un linfoma de célula T inmadura que expresaba un receptor de célula T αβ particular se subclonó, se obtuvieron varias subclonas que expresaban el mismo alelo de cadena β pero un alelo de cadena α distinto al expresado por la clona original. Estudios con ratones transgénicos también indican que la exclusión alélica es menos rigurosa para los genes de la cadena α del TCR que para los genes de la cadena β. Los ratones que portan un transgén de TCR αβ reordenado en forma productiva no reordenan ni expresan los genes de cadena β endógenos. Sin embargo, en ocasiones expresan genes de cadena α endógenos a diversos valores en lugar del transgén de cadena α ya reordenado.

Puesto que la exclusión alélica no es completa para la cadena α de TCR, en casos raros se expresa más de una cadena α en la membrana de una célula T determinada. La pregunta obvia es: ¿cómo las células T excepcionales que expresan dos receptores de célula T αβ conservan una especificidad de unión a antígeno única? Una propuesta sugiere que cuando una célula T expresa dos receptores diferentes de célula T αβ, es probable que el MHC propio sólo restrinja uno de ellos y por consiguiente sea funcional.

Los genes del TCR reordenados se ensamblan a partir de segmentos génicos V, D y J

La estructura general de los genes de TCR reordenados se muestra en la figura 9-7. Las regiones variables de los receptores de célula T son, por supuesto, codificados por secuencias VDJ y VJ

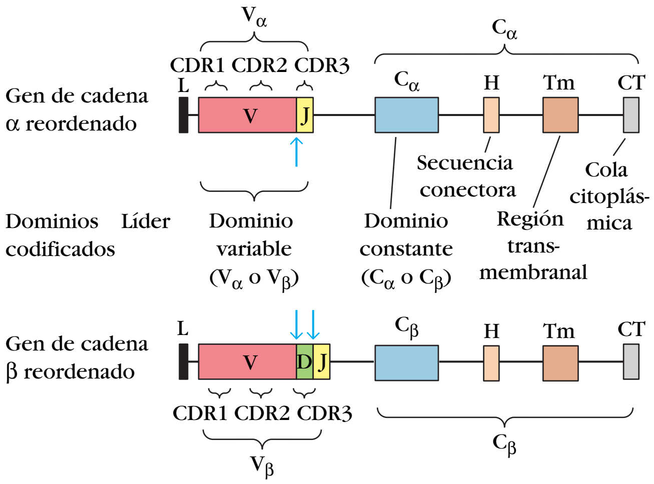


FIGURA 9-7 Diagrama de genes de TCR-αβ reordenados que muestra los exones que codifican los diversos dominios del receptor de célula T αβ y la posición aproximada de las CDR. La diversidad de unión (flechas verticales) genera CDR3 (fig. 9-8). Las estructuras de los genes de las cadenas γ y δ reordenados son similares, aunque es posible que los genes de la cadena δ presenten diversidad de unión adicional.

ENFOQUE CLÍNICO

Reordenamientos de células T como marcadores de células cancerosas

Los cánceres de células T, que incluyen leucemia y linfoma, implican la proliferación descontrolada de una población clonal de células T. El tratamiento satisfactorio demanda un diagnóstico rápido y preciso a fin de aplicar la terapéutica más eficaz. Una vez que el tratamiento se inicia, se requieren pruebas seguras para determinar si el régimen terapéutico tuvo éxito. En principio, como los cánceres de célula T son de naturaleza clonal, la población de células que es cancerosa podría identificarse y vigilarse por la expresión de sus moléculas de TCR únicas. La identificación del TCR específico de clona mediante un anticuerpo monoclonal rara vez es práctica, porque demanda la elaboración tediosa y tardada de un anticuerpo específico dirigido contra su región variable (un anticuerpo antiidiotipo). Además, no todos los cánceres exhibirán una molécula de TCR que sea detectable por el anticuerpo. Un medio alternativo para identificar una población clonal de células T consiste en buscar su DNA en lugar de los productos proteínicos. El patrón que resulta del reordenamiento de los genes de TCR puede proporcionar un marcador único para las células T cancerosas. Como el reordenamiento de los genes de TCR en las células T ocurre antes de que la molécula producto se exprese, es posible detectar células T en etapas tempranas del desarrollo. Los fragmentos génicos únicos que resultan del reordenamiento del gen TCR pueden detectarse mediante técnicas moleculares y biológicas simples, y proporcionar una “huella dactilar” verdadera de una población clonal de células.

Los patrones de DNA que resultan del reordenamiento de los genes en la región β de TCR se utilizan con mayor frecuencia como marcadores. Alrededor de 70 segmentos génicos V_β pueden reordenarse en uno o dos segmentos génicos de región D y de manera subsecuente en uno de 14 segmentos génicos J (figs. 9-6 y 9-8). Ya que cada uno de los genes de la región V tiene a los lados secuencias únicas, este proceso crea nuevas secuencias de DNA que son únicas para cada célula que experimenta el reordenamiento; estas secuencias nuevas pueden detectarse mediante técnicas de Southern-blot o PCR (reacción en cadena de la polimerasa). Como se conoce la secuencia completa de las regiones D, J y C del complejo β del gen de TCR, las sondas y enzimas de restricción apropiadas para Southern blotting se eligen con facilidad.

La detección de DNA del TCR reordenado puede emplearse como un instrumento diagnóstico cuando persisten ganglios linfáticos anormalmente crecidos; tal estado podría resultar de inflamación por una infección crónica o de la proliferación de una célula linfoide cancerosa. Si la causa es inflamación, las células provendrían de una variedad de clonas y el DNA aislado de ellas sería una mezcla de muchas secuencias de TCR distintas que resultaron de reordenamientos múltiples; no se detectarían fragmentos únicos. Si el crecimiento persistente de los ganglios representa una proliferación clonal, habría un fragmento de DNA detectable porque todas las células cancerosas contendrían la misma secuencia de DNA del TCR producida por el reordenamiento del DNA en la célula original. Por consiguiente, la presencia de un fragmento génico nuevo aislado en el DNA de la población celular podría responder la duda de si el crecimiento observado se debió al crecimiento canceroso de células T. Como los genes de Ig se redisponen en la misma forma que los genes de TCR, técnicas similares utilizan sondas de Ig para detectar poblaciones clonales de célula B por sus patrones de DNA únicos. Por tanto, la técnica es útil para una amplia gama de cánceres de células linfoides.

Aunque la detección de un fragmento único de DNA resultante de genes de TCR o Ig reordenados indica proliferación clonal y posible afección maligna de células T o B, la ausencia de este fragmento no descarta cáncer de una población de células linfoides. Es posible que la célula implicada no contenga genes de TCR o Ig reordenados que puedan detectarse por el método o las sondas utilizados. Dado que la clona maligna puede provenir de células T γδ, las muestras deben ensayarse con sondas δ y γ si son negativas para sondas β.

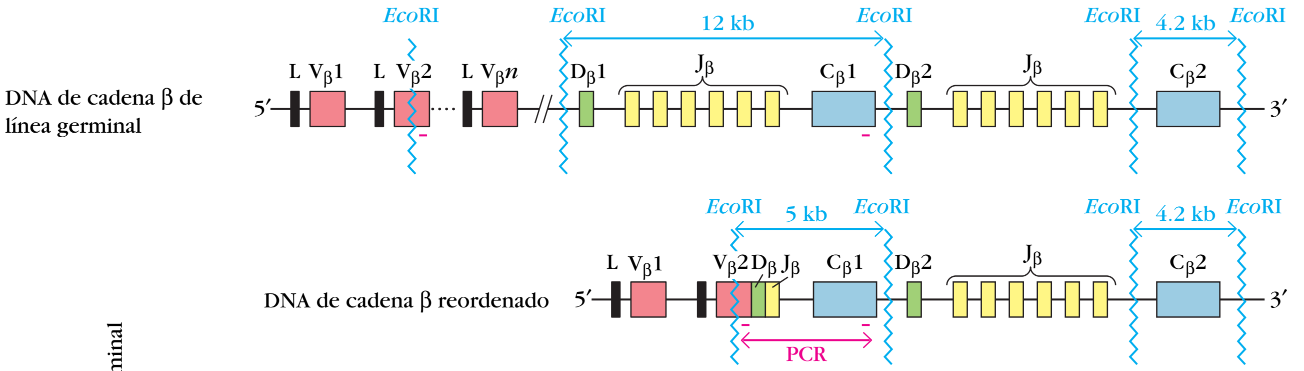
Si la prueba del fragmento de DNA y otros criterios diagnósticos señalan que el paciente tiene un cáncer de células linfoides, a continuación se instituiría tratamiento con radioterapia o quimioterapia. El éxito de esta terapéutica puede vigilarse sondeando el DNA del paciente para la secuencia única que se encuentra en la célula cancerosa. Si el régimen terapéutico tiene éxito, la cifra de células cancerosas disminuirá considerablemente. Si el número de estas últimas se re-

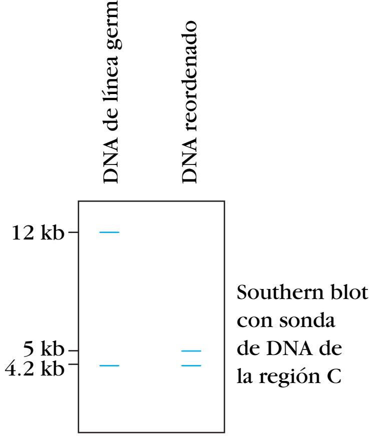
reordenadas. Al parecer, en genes del TCR la unión combinatoria de segmentos génicos V genera CDR1 y CDR2, en tanto que la flexibilidad de unión y la adición de nucleótido de región N genera CDR3. Los genes de TCR reordenados también contienen un exón líder (L) corto corriente arriba de las secuencias VJ o VDJ unidas. Los aminoácidos codificados por el exón líder se escinden a medida que el polipéptido naciente penetra en el retículo endoplásmico.

La región constante de cada cadena de TCR es codificada por un segmento génico C que tiene múltiples exones (fig. 9-7), correspondientes a los dominios estructurales en la proteína (fig. 9-3). El primer exón del segmento génico C codifica la mayor parte del dominio C de la cadena correspondiente. Después está un exón corto que codifica la secuencia conectora, seguido de exones que codifican la región transmembranal y la cola citoplásmica.

La diversidad de TCR se genera en forma similar a la diversidad de anticuerpos pero sin mutación somática

Aunque el DNA de la línea germinal del TCR contiene muchos menos segmentos génicos V que el DNA de la línea germinal de Ig, varios mecanismos que operan durante los reordenamientos





La digestión de DNA de cadena β de TCR humano en una configuración de línea germinal (no reordenada) con *Eco*RI y luego sondeada con una secuencia de región C detectará los fragmentos indicados que contienen C mediante Southern blotting. Una vez que el DNA se ha reordenado, un sitio de restricción 5′ se cortará. La digestión con *Eco*RI producirá un fragmento diferente único para segmentos génicos específicos de las regiones V_β y J_β incorporados en el gen reordenado, como se indica en este ejemplo hipotético. La técnica usada para este análisis deriva de la que S. M. Hedrick y colaboradores emplearon por primera vez para detectar genes β de TCR únicos en una serie de clonas de célula T de ratón (recuadro en la fig. 9-2). Para la detección altamente sensible de la secuencia de TCR reordenada se utilizó la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La secuencia del cebador 5′ (barra roja) se basa en una secuencia única en el segmento génico (V_β) usado por la clona cancerosa (en este ejemplo $V_\beta 2$) y el cebador 3′ (barra roja) es una secuencia de región constante. Para muestras de DNA en que este gen V no se reordena, el fragmento estará ausente porque es muy grande para amplificarse de manera eficiente y detectarse por Southern blotting.

duce a menos de 1 o 2% de la población total de células T, es posible que la prueba mediante Southern-blot ya no detecte el fragmento único. En este caso puede emplearse una técnica más sensible, la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), que permite amplificar o sintetizar múltiples copias de una secuencia de DNA específica en una muestra; pueden hibridarse cebadores a los dos extremos de esa secuencia específica y en consecuencia dirigir una polimerasa de DNA para copiarla; véanse los detalles en el capítulo 22. A fin de detectar una porción de DNA del TCR reordenado, la amplificación que utiliza la secuencia de la región V reordenada como un cebador y una secuencia de la región C de la cadena β como el otro cebador proporcionará un fragmento del DNA de TCR reordenado de tamaño predecible en cantidades suficientes para detectarse mediante electroforesis (véase flecha roja en el diagrama). En fecha reciente se emplearon métodos de PCR cuantitativos para el seguimiento de los pacientes que se encuentran en remisión con objeto de tomar decisiones respecto a la reanudación del tratamiento si el número de células cancerosas, estimado con estas técnicas, aumenta arriba de un cierto nivel. La presencia de DNA reordenado en la población clonal de células T brinda al clínico un instrumento valioso para el diagnóstico de cáncer de células linfoides y para la vigilancia del progreso del tratamiento.

génicos de TCR contribuyen a un alto grado de diversidad entre los receptores de célula T. En el cuadro 9-3 y la figura 9-8 se compara la generación de diversidad entre moléculas de anticuerpo y moléculas de TCR.

La *unión combinatoria* de los segmentos génicos de la región variable da por resultado un gran número de combinaciones génicas aleatorias para todas las cadenas de TCR, así como para los genes de cadena pesada y cadena ligera de Ig. Por ejemplo, en el ratón, los 79 segmentos génicos funcionales V_α y 38 J_α pueden generar 3.0×10^3 posibles combinaciones VJ para la cadena α del TCR. De modo similar, 21 segmentos génicos V_β, dos D_β y 11 J_β pueden dar 4.6×10^2 posibles combinaciones para la cadena β. Aunque hay menos segmentos génicos V_α y V_β en TCR que segmentos V_H y V_L en la inmunoglobulina, esta diferencia es contrarrestada por el mayor número de segmentos J en el DNA de la línea germinal del TCR. Si se supone que la especificidad de unión a antígeno de un receptor de célula T determinado depende de la región variable en ambas cadenas, la vinculación aleatoria de 3×10^3 combinaciones de V_α con 4.6×10^2 combinaciones de V_β puede generar 1.4×10^6 posibles combinaciones para el receptor de célula T αβ. A continuación se describen modos adicionales de generar diversidad en los genes V de TCR, de manera que los 1.4 millones de combinaciones representan una estimación mínima.

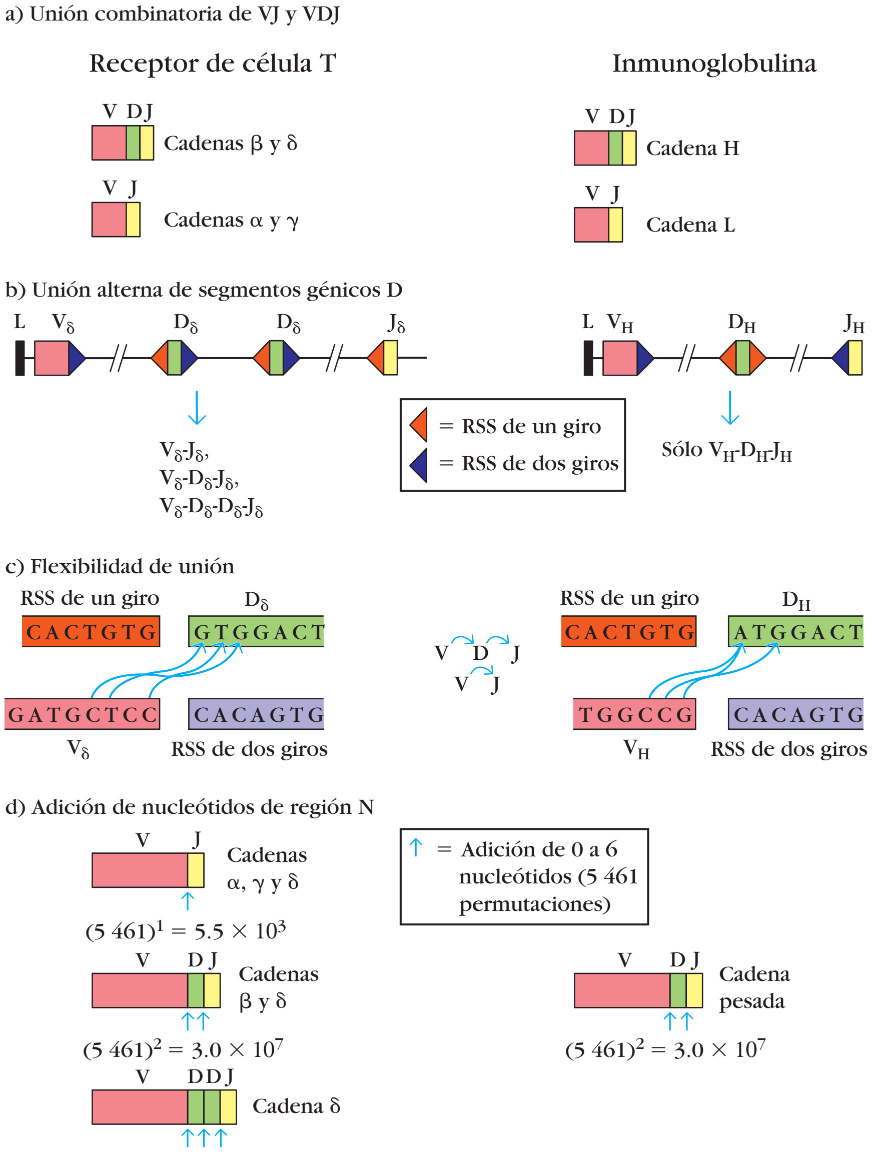

a) Unión combinatoria de VJ y VDJ
Receptor de célula T
V DJ
Cadenas β y δ
V J
Cadenas α y γ
Inmunoglobulina
V DJ
Cadena H
V J
Cadena L
b) Unión alterna de segmentos génicos D
L Vδ Dδ Dδ Jδ
Vδ-Jδ,
Vδ-Dδ-Jδ,
Vδ-Dδ-Dδ-Jδ
= RSS de un giro
= RSS de dos giros
L VH DH JH
Sólo VH-DH-JH
c) Flexibilidad de unión
RSS de un giro
Dδ
CACTGTG
GTGGACT
GATGCTCC
CACAGTG
Vδ
RSS de dos giros
V D J
V J
RSS de un giro
DH
CACTGTG
ATGGACT
TGGCCG
CACAGTG
VH
RSS de dos giros
d) Adición de nucleótidos de región N
V J
Cadenas α, γ y δ
(5 461)¹ = 5.5 × 10³
V DJ
Cadenas β y δ
(5 461)² = 3.0 × 10⁷
V DDJ
Cadena δ
↑ = Adición de 0 a 6 nucleótidos (5 461 permutaciones)
V DJ
Cadena pesada
(5 461)² = 3.0 × 10⁷

FIGURA 9-8 Comparación de los mecanismos para generar la diversidad en genes de TCR y genes de inmunoglobulina. Además del mecanismo que se muestra, la adición de nucleótido en la región P ocurre tanto en los genes de TCR como en los de Ig; estos últimos experimentan mutación somática. La relación combinatoria de las cadenas expresadas genera una diversidad adicional entre las moléculas de TCR y de Ig.

Como se ilustra en la figura 9-8b, la localización de secuencias señal de recombinación (RSS) de un giro (12 pb) y dos giros (23 pb) en el DNA de las cadenas β y δ del TCR difiere de la del DNA de cadena pesada de la Ig. A causa del reordenamiento de las RSS en el DNA de la línea germinal del TCR, la unión alterna de segmentos génicos D puede ocurrir en tanto se observe la regla de unión de un giro-dos giros. Por tanto, es posible que un segmento génico V$_\beta$ se una directamente con un segmento génico J$_\beta$ o uno D$_\beta$ y genere una unidad (VJ)$_\beta$ o (VDJ)$_\beta$.

La unión alterna de segmentos génicos de la cadena δ genera unidades similares; además un D$_\delta$ puede unirse con otro y producir (VDDJ)$_\delta$ y, en el humano (VDDDJ)$_\delta$. Este mecanismo, que no puede operar en el DNA de la cadena pesada de Ig, da origen a una diversidad adicional considerable en los genes de TCR.

La unión de segmentos génicos durante el reordenamiento del gen de TCR muestra **flexibilidad de unión**. Igual que con los genes de Ig, esta flexibilidad puede generar muchos reordenamientos no productivos, pero también incrementa la diversidad mediante la codificación de varios aminoácidos alternativos en cada unión (fig. 9-8c). Tanto en los genes de Ig como en los de TCR pueden añadirse nucleótidos en la unión entre algunos segmentos génicos durante el reordenamiento (fig. 5-13). La variación en la escisión por endonucleasa conduce a la adición de más nucleótidos que son palindrómicos. Esta **adición de nucleótidos de región P** puede ocurrir en genes que codifican todas las cadenas de TCR e Ig. La adición de **nucleótidos de región N**, catalizada por una transferasa de desoxinucleótido terminal, produce diversidad de unión adicional. Si bien la adición de nucleótidos de región N en las inmunoglobulinas sólo se observa en los genes de cadena pesada de Ig, se presenta en los genes que codifican todas las cadenas de TCR. Por este mecanismo pueden añadirse hasta seis nucleótidos en cada unión, lo que origina hasta 5 461 posibles combinaciones, suponiendo la selección aleatoria de nucleótidos (fig. 9-8d). Sin embargo, algunas de estas combinaciones dan lugar a reordenamientos improductivos mediante la inserción de codones de detención dentro del marco, que hacen concluir de modo prematuro la cadena de TCR, o por medio de la sustitución de aminoácidos que tornan no funcional al producto. Aunque cada región de unión en un gen de TCR codifica sólo 10 a 20 aminoácidos, en estas regiones puede producirse una diversidad enorme. Las estimaciones sugieren que los efectos combinados de la adición de nucleótidos de regiones P y N y la flexibilidad de unión pueden generar hasta 10^{13} posibles secuencias de aminoácidos tan sólo en las regiones de unión del TCR.

El mecanismo por el cual se genera la diversidad del TCR debe permitir que el receptor reconozca un gran número de antígenos procesados distintos al mismo tiempo que restringe su repertorio de reconocimiento de MHC a un número mucho más pequeño de moléculas MHC propias. El DNA del TCR tiene mucho menos segmentos génicos V que el DNA de Ig (cuadro 9-3). Los investigadores han postulado que el número más pequeño de segmentos génicos V en el DNA de TCR se seleccionó para codificar un número limitado de regiones CDR1 y CDR2 con afinidad por regiones de las hélices α de moléculas del MHC. Aunque es una idea atractiva, resulta improbable con base en datos recientes de la estructura del complejo TCR-péptido-MHC que muestra contacto entre péptido y CDR1, así como CDR3. Por tanto, los residuos de TCR que se unen a péptido comparados con los que se unen al MHC no sólo se limitan a la región CDR3, altamente variable.

En contraste con la diversidad limitada de CDR1 y CDR2, la CDR3 del TCR tiene una diversidad incluso mayor que la que se observa en las inmunoglobulinas. La diversidad en CDR3 es generada por la diversidad de unión en la unión de segmentos V, D y J, la unión de múltiples segmentos génicos D y la introducción de nucleótidos P y N en las uniones VDJ y VJ (fig. 9-7).

A diferencia de los genes de Ig, al parecer los de TCR no experimentan mutación somática. Es decir, los genes de TCR funcionales originados por reordenamientos génicos durante la maduración de la célula T en el timo tienen las mismas secuencias que los que se encuentran en la población periférica madura de células T. La ausencia de mutación somática en células T asegura que la especificidad de estas últimas no cambie después de la selección tímica y por tanto reduce la posibilidad de que la mutación aleatoria produzca una célula T autorreactiva. Aunque unos cuantos experimentos proporcionan pruebas de mutación somática de los genes del receptor en células T del centro germinal, al parecer es la excepción y no la regla.

Complejo receptor de célula T: TCR-CD3

Como se explica en el capítulo 4, la inmunoglobulina unida a la membrana en células B se relaciona con otra proteína de membrana, el heterodímero Ig-α/Ig-β, para formar el receptor de antígeno de la célula B (fig. 4-22). De modo similar, el receptor de célula T se vincula con **CD3** y forma el complejo de membrana TCR-CD3. En ambos casos la molécula accesoria participa en la transducción de señales *después* de la interacción de una célula B o T con antígeno; no influye en la interacción con el antígeno en sí.

El primer indicio que sugiere que el receptor de célula T se relaciona con otra molécula de membrana provino de experimentos en los que se demostró que un anticuerpo fluorescente contra el receptor causaba la agregación de otra proteína de membrana, designada CD3. Trabajos posteriores efectuados por J. P. Allison y L. Lanier, en los que se utilizaron reactivos formadores de enlaces cruzados, demostraron que las dos cadenas deben estar a una distancia no mayor de 12 Å. Experimentos subsecuentes demostraron que el CD3 no sólo se vincula de manera estrecha con el heterodímero αβ, sino que también se requiere su expresión para la expresión en la membrana de receptores de célula T αβ y γδ: cada heterodímero forma un complejo con CD3 en la membrana de la célula T. La pérdida de los genes que codifican CD3 o las cadenas de TCR causa la pérdida del complejo molecular de la membrana completo.

CD3 es un complejo de cinco cadenas polipeptídicas invariantes que se relacionan para formar tres dímeros: un heterodímero de cadenas γ y ϵ (γϵ), un heterodímero de cadenas δ y ϵ (δϵ), y un homodímero de dos cadenas ζ (ζζ) o un heterodímero de cadenas ζ y η (ζη) (fig. 9-9a). Las cadenas ζ y η son codificadas por el mismo gen, pero no concuerdan en sus extremos carboxilo terminales por diferencias en el empalme de RNA del transcrito primario. Alrededor de 90% de los complejos CD3 examinados hasta la fecha incorporan el homodímero (ζζ); el resto tienen el heterodímero (ζη). El complejo receptor de célula T puede verse entonces como cuatro dímeros: el heterodímero αβ o γδ de TCR determina la especificidad de unión a ligando, en tanto que los dímeros CD3 (γϵ, δϵ y ζζ o ζη) se requieren para la expresión del receptor de célula T en la membrana y la transducción de señales.

Las cadenas γ, δ y ϵ de CD3 son miembros de la superfamilia de las inmunoglobulinas, y cada una contiene un dominio extracelular tipo inmunoglobulina seguido de una región transmembranal y un dominio citoplásmico de más de 40 aminoácidos. La cadena ζ tiene una estructura claramente distinta, con una región externa muy corta de sólo nueve aminoácidos, una región transmembranal y una cola citoplásmica larga que contiene 113 aminoácidos. La región transmembranal de todas las cadenas polipeptídicas CD3 contiene un residuo con carga negativa (ácido aspártico o glutámico) que interactúa con uno o dos aminoácidos de carga positiva en la región transmembranal de cada cadena del TCR. En la figura 9-9b se muestran los componentes del complejo CD3 y los medios por los cuales interactúan con el TCR αβ.

Las colas citoplásmicas de las cadenas CD3 contienen un elemento llamado **motivo de activación de inmunorreceptor basado en tirosina (ITAM)**. Los ITAM se encuentran en otros receptores, como el heterodímero Ig-α/Ig-β del complejo receptor de célula B y los receptores Fc para IgE e IgG. Se demostró que los sitios de ITAM interactúan con tirosincinasas y desempeñan un papel importante en la transducción de señales. En CD3, cada cadena γ, δ y ϵ contiene una sola copia de ITAM, en tanto que las cadenas ζ y η incluyen tres copias (fig. 9-9a). La función de CD3 en la transducción de señales se describe con mayor amplitud en el capítulo 10.

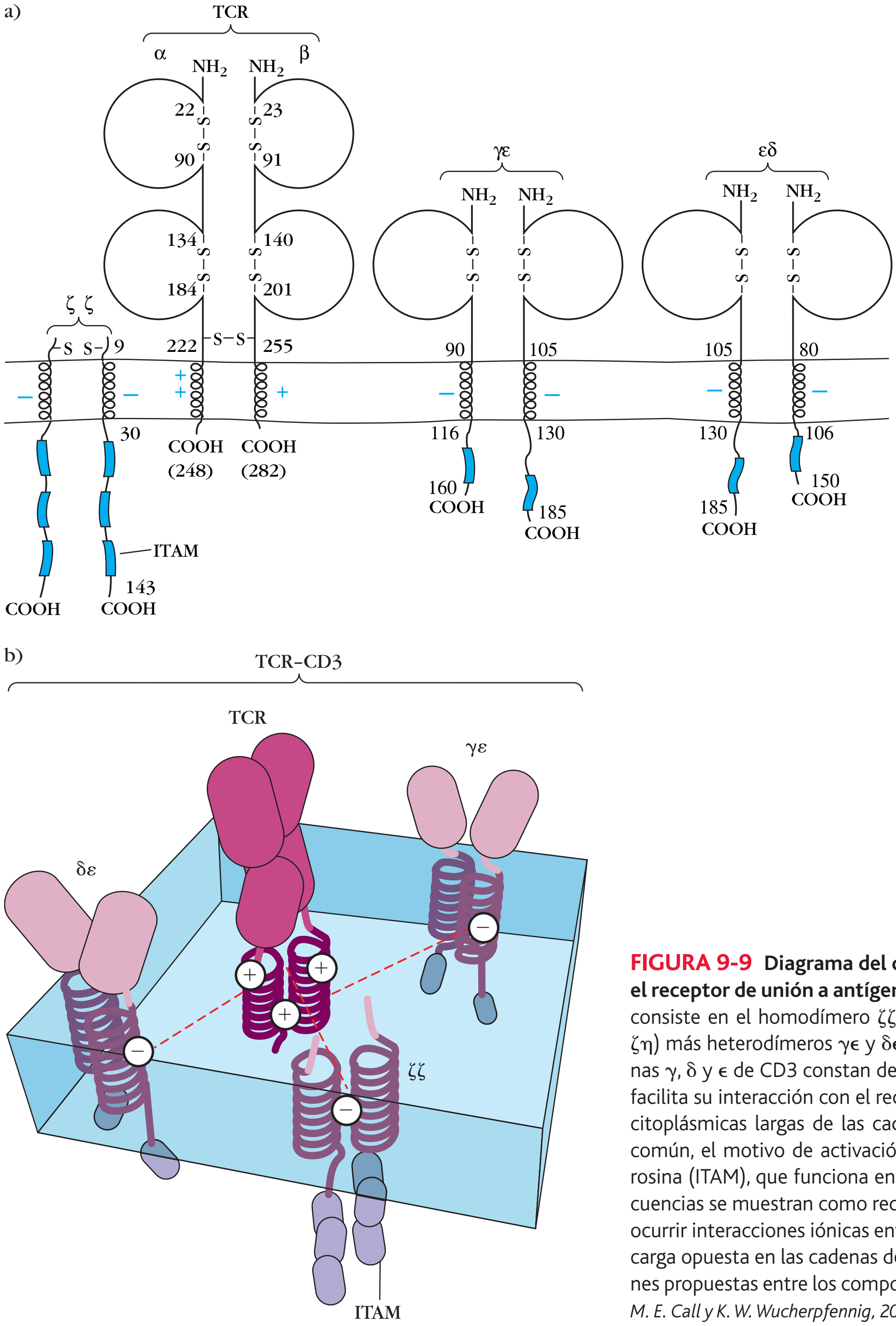

a)
TCR
α
β
NH2
NH2
22
23
90
91
134
140
184
201
222
255
S–S
ζ ζ
S S
9
30
143
COOH
COOH
COOH (248)
COOH (282)
ITAM
γε
NH2
NH2
90
105
116
130
160 COOH
185 COOH
εδ
NH2
NH2
105
80
130
106
185 COOH
150 COOH
b)
TCR-CD3
TCR
γε
δε
ζζ
ITAM

FIGURA 9-9 Diagrama del complejo TCR-CD3, que constituye el receptor de unión a antígeno de la célula T. a) El complejo CD3 consiste en el homodímero ζζ (alternativamente un heterodímero ζη) más heterodímeros γϵ y δϵ. Los dominios externos de las cadenas γ, δ y ϵ de CD3 constan de pliegues de inmunoglobulina, lo que facilita su interacción con el receptor de célula T y entre sí. Las colas citoplásmicas largas de las cadenas CD3 contienen una secuencia común, el motivo de activación de inmunorreceptor basado en tirosina (ITAM), que funciona en la transducción de señales; estas secuencias se muestran como rectángulos azules. b) Asimismo pueden ocurrir interacciones iónicas entre las regiones transmembranales de carga opuesta en las cadenas de TCR y CD3. Se muestran interacciones propuestas entre los componentes CD3 y el TCR αβ. *[Adaptada de M. E. Call y K. W. Wucherpfennig, 2004,* Molecular Immunology ***40:****1295.]*

Moléculas de membrana accesorias de la célula T

Aunque el reconocimiento de complejos antígeno-MHC es mediado sólo por el complejo TCR-CD3, otras moléculas de membrana tienen funciones accesorias importantes en el reconocimiento de antígeno y la activación de la célula T (cuadro 9-4). Algunas de estas moléculas refuerzan la interacción entre las células T y las células presentadoras de antígeno o las células blanco, algunas actúan en la transducción de señales y otras participan en ambas funciones.

Correceptores CD4 y CD8 se unen a regiones conservadas de las moléculas MHC clase II o I

Las células T pueden subdividirse en dos poblaciones según su expresión de moléculas de membrana CD4 o CD8. Como se

CUADRO 9-4 Moléculas accesorias seleccionadas de la célula T

		FUNCIÓN		
Nombre	**Ligando**	**Adherencia**	**Transducción de señal**	**Miembro de la superfamilia de Ig**
CD4	Clase II MHC	+	+	+
CD8	Clase I MHC	+	+	+
CD2 (LFA-2)	CD58 (LFA-3)	+	+	+
LFA-1 (CD11a/CD18)	ICAM-1 (CD54)	+	?	+/(−)
CD28	B7	?	+	+
CTLA-4	B7	?	+	−
CD45R	CD22	+	+	+
CD5	CD72	?	+	−

describe en los capítulos anteriores, las células T CD4$^+$ reconocen antígenos asociados a moléculas MHC clase II y funcionan en gran parte como células colaboradoras, en tanto que las células CD8$^+$ reconocen antígenos asociados a moléculas MHC clase I y funcionan en gran parte como células citotóxicas. La glucoproteína CD4 es una glucoproteína de membrana monomérica de 55 kDa que contiene cuatro dominios extracelulares tipo inmunoglobulina (D_1-D_4), una región transmembranal hidrófoba y una cola citoplásmica larga (fig. 9-10) que alberga tres residuos de serina que pueden fosforilarse. Por lo general CD8 adquiere la forma de un heterodímero αβ enlazado por disulfuro o la de un homodímero αα. Las cadenas α y β de CD8 son glucoproteínas pequeñas de alrededor de 30 a 38 kDa. Cada cadena contiene un dominio extracelular único tipo inmunoglobulina, una región transmembranal hidrófoba y una cola citoplásmica (fig. 9-10) con 25 a 27 residuos, varios de los cuales pueden fosforilarse.

CD4 y CD8 se clasifican como *correceptores* con base en sus capacidades de reconocer el complejo péptido-MHC y sus funciones en la transducción de señales. Los dominios extracelulares de CD4 y CD8 se unen a las regiones conservadas de las moléculas MHC en células presentadoras de antígeno (APC) o células blanco. Los estudios cristalográficos de un complejo compuesto por la molécula MHC clase I HLA-A2, un péptido antigénico y un homodímero αα CD8 indican que CD8 se une a moléculas clase I por contacto con los dominios α2 y α3 de MHC clase I, así como al tener cierto contacto con la microglobulina β_2 (fig. 9-11a). La orientación del dominio α3 clase I cambia un poco cuando se une a CD8. Esta estructura es compatible con una molécula MHC única que se une a CD8; no se observaron indicios de la posibilidad de complejos multiméricos clase I-CD8. Datos estructurales similares documentaron el modo en que CD4 se une a la molécula clase II. La interacción entre CD4 y MHC II incluye el contacto del dominio distal de membrana de CD4 con una bolsa hidrófoba formada por residuos de los dominios α2 y β2 de MHC II (fig. 9-11b). CD4 facilita la transducción de señales y la activación por células T de células que reconocen complejos clase II-péptido.

Aún se especula si existen diferencias entre las funciones de los correceptores CD4 y CD8. A pesar de las similitudes en la estructura, debe recordarse que la naturaleza de la unión de péptidos a moléculas clase I y clase II difiere en que la clase I tiene un surco cerrado que une un péptido corto con un grado más alto de especificidad. Datos recientes que se mencionan más adelante indican que el ángulo al que el TCR aborda el complejo péptido-MHC es distinto entre las clases I y la II. Las diferencias en las funciones que los correceptores CD4 y CD8 realizan pueden deberse a estas variaciones en los requerimientos de unión. Como se señala en el capítulo 10, la unión de las moléculas CD4 y CD8 sirve para transmitir señales estimuladoras a las células

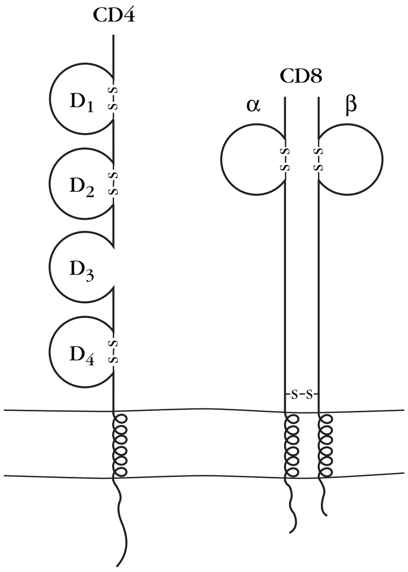


FIGURA 9-10 Estructura general de los correceptores CD4 y CD8; los dominios tipo Ig se muestran como círculos. CD8 toma la forma de un heterodímero αβ o un homodímero αα. La molécula CD4 monomérica contiene cuatro dominios del doblez de Ig; cada cadena de la molécula CD8 contiene uno.

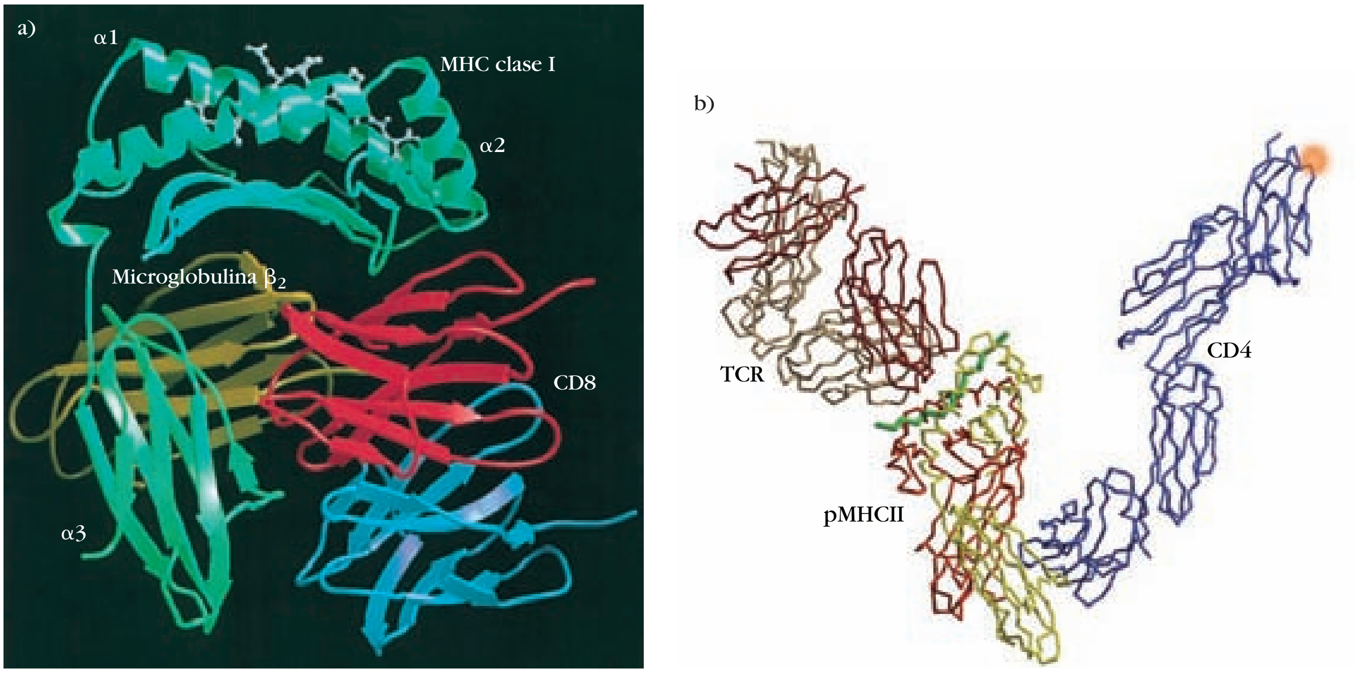


FIGURA 9-11 Interacciones de correceptores con TCR y moléculas MHC. a) El diagrama en listón muestra la estructura tridimensional de la molécula MHC clase I HLA-A2 unida al homodímero αα CD8. La cadena pesada HLA-A2 se muestra en verde, la microglobulina β_2 en oro, el CD8 α1 en rojo, el CD8 α2 en azul y el péptido unido en blanco. Un asa flexible del dominio α3 (residuos 223 a 229) está en contacto con las dos subunidades CD8. En este modelo, el lado derecho de CD8 se fija en la membrana de la célula T, y el extremo izquierdo inferior de la molécula MHC clase I (el dominio α3) está unido a la superficie de la célula blanco. b) Interacción de CD4 con el complejo MHC clase II-péptido (pMHCII). *[Parte a tomada de Gao et al., 1997,* Nature ***387****:630; parte b tomada de Wang et al., 2001,* Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A., ***98****(19):10799.]*

T; las propiedades de transducción de señales de CD4 y CD8 son mediadas por sus dominios citoplásmicos.

La afinidad del TCR por complejos péptido-MHC es intensificada por correceptores

La afinidad de los receptores de célula T por complejos péptido-MHC es de baja a moderada, con valores de K_d que varían de 10^{-4} a 10^{-7} M. Este grado de afinidad es débil si se compara con las interacciones antígeno-anticuerpo, que suelen tener valores de K_d que van de 10^{-6} a 10^{-10} M (fig. 9-12a). Sin embargo, las interacciones de la célula T no dependen sólo de la unión mediante el TCR; las *moléculas de adhesión celular* fortalecen la unión entre una célula T y una célula presentadora de antígeno o una célula blanco. Varias moléculas de membrana accesorias, que incluyen CD2, LFA-1, CD28 y CD45R, se unen de manera independiente a otros ligandos en células presentadoras de antígeno o en células blanco (cuadro 9-4 y fig. 9-12b). Una vez que las moléculas de adhesión han hecho contacto célula a célula, el TCR puede explorar la membrana en busca de complejos péptido-MHC. Durante la activación de una célula T por un complejo péptido-MHC particular ocurre un incremento pasajero en la expresión de moléculas de adhesión celular en la membrana, lo que origina un contacto más cercano entre las células que interactúan y permite que citocinas o sustancias citotóxicas se transfieran con mayor eficacia. El grado de adhesión disminuye poco después de la activación y la célula T se desprende de la célula presentadora de antígeno o la célula blanco. Como CD4 y CD8, algunas de estas otras moléculas funcionan también como transductores de señales. La capacidad de anticuerpos monoclonales específicos para los sitios de unión de las moléculas de adhesión celular para bloquear la activación de las células T demuestra la importancia de su función.

Datos recientes sobre la interacción entre las porciones extracelulares de CD4 y el complejo péptido-clase II indican que existe muy débil afinidad entre ellos, y en algunos experimentos no fue posible demostrar unión. Este dato no es consistente con el cuerpo de evidencia acerca de la proximidad de CD4 y moléculas clase II (fig. 9-11). En la figura 9-13 se muestra una explicación satisfactoria de esta diferencia; ahí se propone una interacción de múltiples pasos entre CD4 y el complejo TCR. El diagrama indica que la interacción entre complejo TCR y molécula CD4 es estabilizada por interacciones dobles entre la molécula de transducción de señales $p56^{lck}$ y tanto CD4 como el homodímero ζζ del complejo CD3. Sugiere además que el reclutamiento de moléculas que participan en la transducción de señales puede ser una función importante del CD4 en la membrana de la célula T.

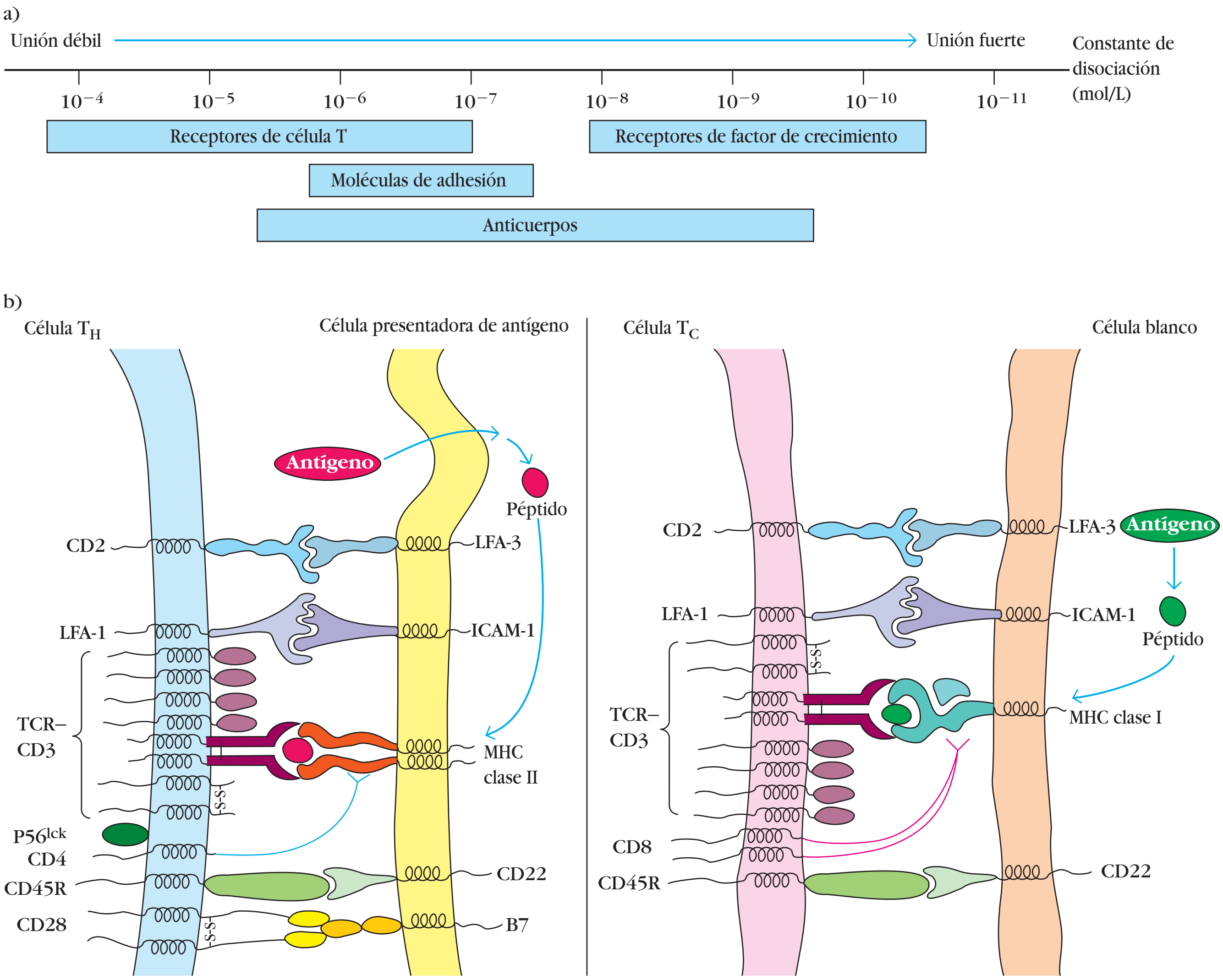
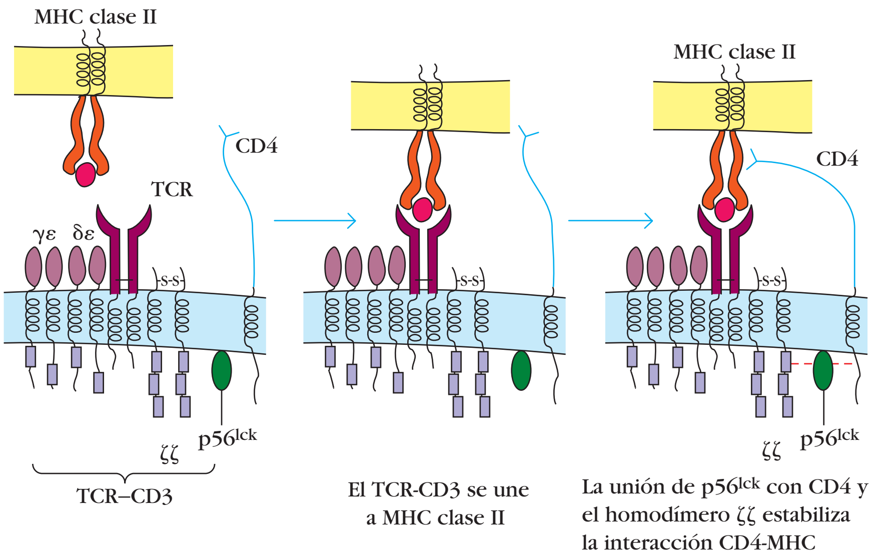

a)
Unión débil
Unión fuerte
Constante de disociación (mol/L)
10^{-4}
10^{-5}
10^{-6}
10^{-7}
10^{-8}
10^{-9}
10^{-10}
10^{-11}
Receptores de célula T
Receptores de factor de crecimiento
Moléculas de adhesión
Anticuerpos
b)
Célula T_H
Célula presentadora de antígeno
Antígeno
Péptido
CD2
LFA-3
LFA-1
ICAM-1
TCR–CD3
MHC clase II
S-S
p56^{lck}
CD4
CD45R
CD22
CD28
B7
Célula T_C
Célula blanco
CD2
LFA-3
Antígeno
LFA-1
ICAM-1
Péptido
S-S
TCR–CD3
MHC clase I
CD8
CD45R
CD22

FIGURA 9-12 Función de los correceptores en la afinidad de unión del TCR. a) Constantes de disociación para diversos sistemas biológicos. b) Diagrama de las interacciones entre el receptor de célula T y el complejo péptido-MHC y de diversas moléculas accesorias con sus ligandos en una célula presentadora de antígeno (*izquierda*) o una célula blanco (*derecha*). La unión de los correceptores CD4 y CD8 y las otras moléculas accesorias a sus ligandos fortalece la unión entre las células que interactúan, facilita la transducción que conduce a la activación de las células T, o ambas cosas.


MHC clase II
CD4
TCR
γε
δε
S-S
ζζ
p56^{lck}
TCR–CD3
MHC clase II
S-S
MHC clase II
CD4
S-S
ζζ
p56^{lck}

El TCR-CD3 se une a MHC clase II

La unión de p56^{lck} con CD4 y el homodímero ζζ estabiliza la interacción CD4-MHC

FIGURA 9-13 La actividad del CD4 para estabilizar la interacción entre la célula T y la APC es intensificada por un contacto de dos puntos en que participan no sólo las porciones extracelulares de CD4 y moléculas MHC clase II (fig. 9-11) sino también la interacción intracelular del CD4 y la molécula de transducción de señales asociada p56^{lck} con la cadena z del complejo CD3. *[Adaptada de Davis et al., 2003.* Nature Immunology *4:217.]*

Estructuras tridimensionales de complejos TCR-péptido-MHC

La interacción entre el receptor de célula T y un antígeno unido a una molécula MHC es decisiva tanto para las respuestas humorales como para las mediadas por células. Los elementos moleculares de esta interacción ahora se describen de manera detallada mediante la cristalografía con rayos X para moléculas de TCR que se unen a complejos péptido-MHC clase I y clase II. La estructura tridimensional del complejo trimolecular fue publicada primero por Dave Garboczi, Don Wiley y colaboradores. Esta estructura original incluye cadenas α y β de TCR y una molécula de HLA-A2 a la que está unido un péptido antigénico del retrovirus HTLV-1 del ser humano. Comparaciones del TCR en complejo con moléculas clase I o clase II sugieren que existen diferencias en el modo en que el TCR entra en contacto con el complejo MHC-péptido. Estas estructuras difieren en grado significativo de las propias del receptor γδ, que es relativamente sencillo y puede estar unido a un antígeno que no requiere procesamiento o a una molécula MHC independientemente del péptido unido (fig. 9-4).

Según el análisis con rayos X, el complejo TCR-péptido-MHC consiste en una molécula de TCR única unida a una molécula MHC única y su péptido. El TCR entra en contacto con la molécula MHC a través de dominios variables del TCR (fig. 9-14a, b). Viendo desde arriba la molécula MHC con su péptido unido, se observa que el TCR se sitúa a través de ella diagonalmente respecto al eje largo del péptido (fig. 9-14c). Las asas CD3 de las cadenas α y β del TCR coinciden en el centro del pépti-

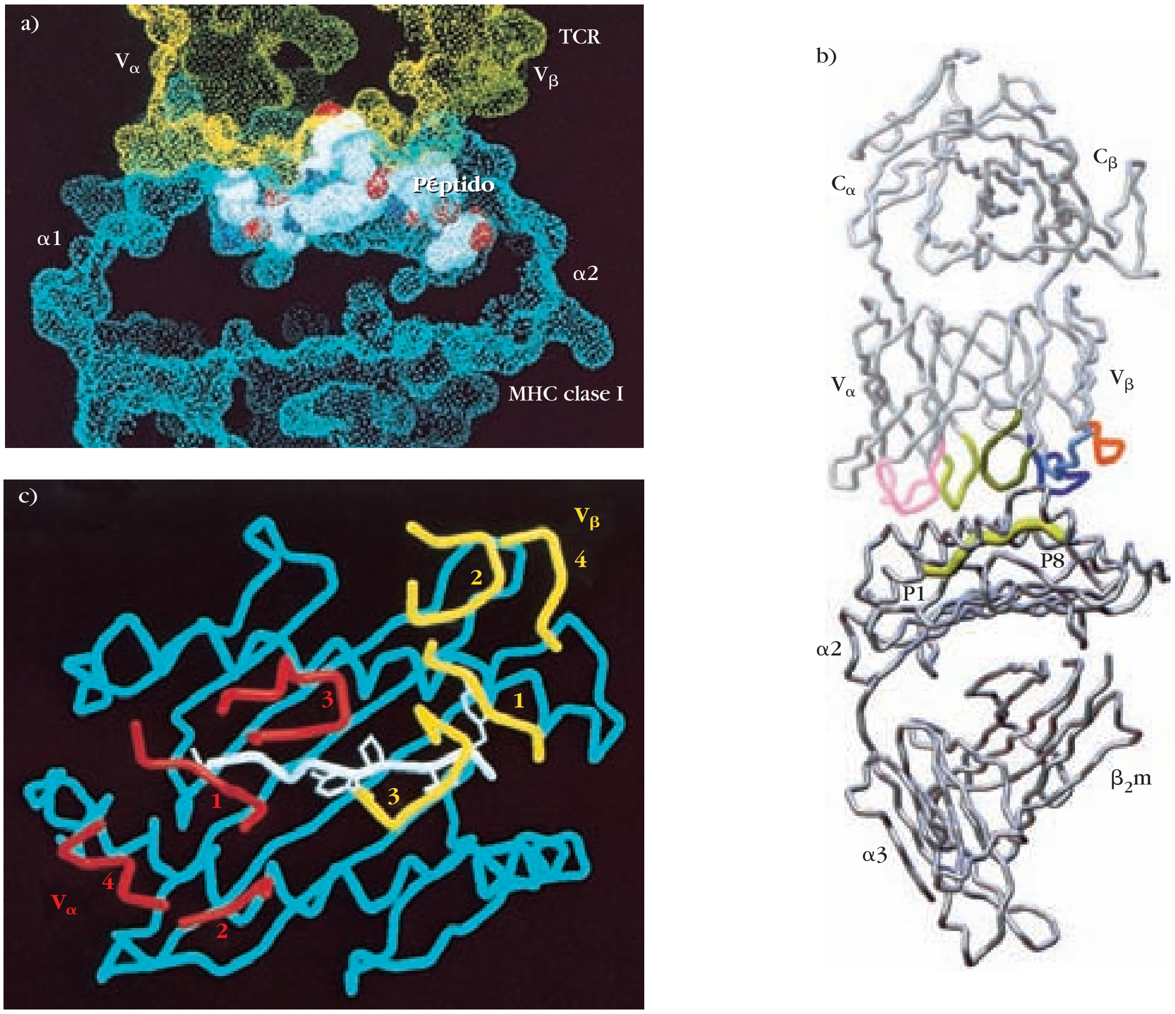


FIGURA 9-14 Estructuras tridimensionales del complejo TCR-MHC-péptido. a) Modelo que muestra la interacción entre el TCR humano (arriba, amarillo) y la molécula MHC clase I HLA-A2 (fondo, azul) con péptido Tax HTLV-1 unido (blanco y rojo). b) Diagrama tubular del esqueleto del complejo ternario de TCR de ratón unido a molécula MHC clase I H-2K^b y péptido (tubo verde numerado P1 a P8). Las CDR1 y 2 del dominio variable (V_α) de la cadena α de TCR se muestran en color rosa; las CDR1 y 2 del dominio variable (V_β) de la cadena β se presentan en azul, y las CDR3 de ambas cadenas se muestran en verde. El HV4 de la cadena β es de color anaranjado. c) Molécula MHC vista desde arriba, es decir, desde arriba de la parte (a), con las asas hipervariables (1 a 4) de las cadenas variables α (rojo) y β (amarillo) superpuestas en el péptido Tax (blanco), y los dominios α1 y α2 de la molécula MHC clase 1 HLA-A2 (azul). *[Partes a y c tomadas de D. N. Gaboczi et al., 1996,* Nature ***384:****134-141, cortesía de D. C. Wiley, Harvard University; parte b tomada de C. Garcia et al., 1996,* Science ***274:****209, cortesía de C. Garcia, Stanford University.]*

do, y el asa CDR1 de la cadena α del TCR está en el extremo N del péptido, mientras que la CDR1 de la cadena β está en el extremo C del péptido. Las asas CDR2 están en contacto con la molécula MHC; CDR2α está encima de la hélice α del dominio α2, y CDR2β está encima de la hélice α del dominio α1 (fig. 9-14c).

Como se predijo con base en los datos para las inmunoglobulinas, el reconocimiento del complejo péptido-MHC ocurre a través de asas variables en la estructura del TCR. CDR1 y CDR3 de las cadenas tanto α como β de TCR están en contacto con el péptido y un área grande de la molécula MHC. El péptido está encajado a mayor profundidad en la molécula MHC que en el TCR (fig. 9-14a, b) y la molécula de este último se acomoda a través de la molécula MHC, al hacer contacto con ella de un lado a otro de la superficie plana del TCR en los "puntos altos" de la molécula MHC. El hecho de que la región CDR1 haga contacto con péptido y MHC sugiere que otras regiones además de CDR3 participan en la unión del péptido.

Los TCR interactúan de manera diferente con moléculas clase I y clase II

¿Es posible extrapolar las conclusiones obtenidas de la estructura tridimensional de los complejos TCR-péptido-clase I a las interacciones de TCR con complejos clase II? Ellis Reinherz y colaboradores resolvieron esta duda al analizar una molécula de TCR en complejo con una molécula clase II de ratón y su antígeno específico. Si bien las estructuras de la región de unión al péptido en las moléculas clase I y clase II son similares, en el capítulo 8 se expuso que existen diferencias en la forma en que dan cabida al péptido unido (fig. 8-7a, b). Una comparación de las interacciones de un TCR con MHC clase I-péptido y clase II-péptido revela una diferencia importante en el ángulo en que la molécula de TCR se asienta en los complejos de MHC (fig. 9-15). Asimismo, es notable un número mayor de residuos de contacto entre TCR y MHC clase II, que es compatible con la afinidad de interacción más alta conocida. Sin embargo, aún es necesario saber si la diferencia obvia en el número de puntos de contacto existe para todas las estructuras clases I y II.

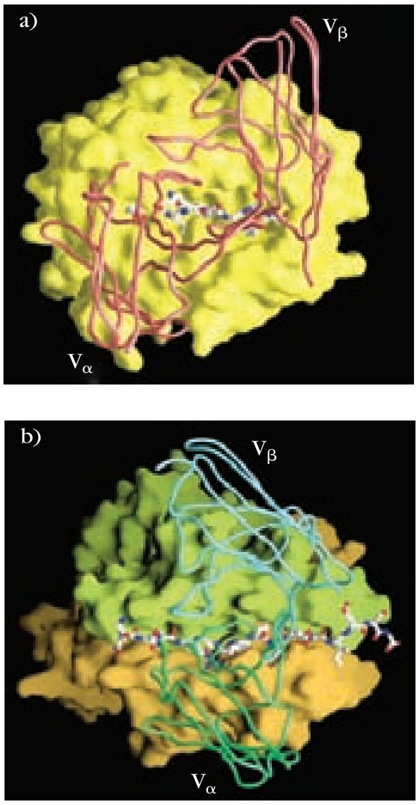


FIGURA 9-15 Comparación de las interacciones entre TCR-αβ y a) MHC clase I-péptido, y b) MHC clase II-péptido. El TCR (diagrama alámbrico) es rojo en (a) y azul-verde en (b); las moléculas MHC se muestran como modelos de superficie; el péptido se presenta como esferas y barras. *[Tomada de Reinherz et al., 1999,* Science *286:1913.]*

Alorreactividad de las células T

Las secciones precedentes se enfocaron en la función de las moléculas MHC en la presentación de antígeno a células T y las interacciones de los TCR con complejos péptido-MHC. No obstante, como se señala en el capítulo 8, las moléculas MHC se identificaron por primera vez gracias a su participación en el rechazo de tejido extraño. Las reacciones de rechazo de injerto son resultado del reconocimiento por células T de moléculas MHC, que funcionan como **antígenos de histocompatibilidad**. A causa del polimorfismo extremo del MHC, casi todos los individuos de la misma especie tienen grupos únicos de moléculas MHC, o antígenos de histocompatibilidad, y se considera que son **alogénicos**, un término que se utiliza para describir a individuos de la misma especie genéticamente distintos (cap. 17). Por consiguiente, las células T responden incluso a **aloinjertos** (injertos de miembros de la misma especie) y se considera que las moléculas MHC son *aloantígenos*. Por lo general las células T $CD4^+$ son alorreactivas a aloantígenos clase II y las células T $CD8^+$ responden a aloantígenos clase I.

La alorreactividad de las células T es desconcertante por dos razones. Primero, la capacidad de las células T de reaccionar a antígenos de histocompatibilidad alogénicos aislados parece contradecir todas las pruebas que indican que las células T sólo responden a antígeno extraño más moléculas MHC *propias*. Sin embargo, al reaccionar a injertos alogénicos, las células T reconocen una molécula MHC *extraña* (no propia). Un segundo problema que la respuesta de la célula T a moléculas MHC alogénicas plantea es que la frecuencia de células T alorreactivas es muy alta; se estima que entre 1 a 5% de todas las células T son reactivas a un aloinjerto determinado, lo que es superior a la frecuencia normal de células T reactivas a cualquier péptido antigénico extraño particular más moléculas MHC propias. Esta frecuencia alta de células T alorreactivas parece contradecir el dogma básico de selección clonal. Si una célula T en 20 reacciona con un aloantígeno determinado y se supone que hay un orden de 100 haplotipos H-2 distintos en ratones, entonces no existen suficientes especificidades distintas de la célula T para cubrir todos los aloantígenos H-2 únicos, sin considerar los antígenos extraños exhibidos por moléculas MHC propias.

Una posible explicación satisfactoria en términos biológicos para la frecuencia alta de células T alorreactivas consiste en que un receptor de célula T particular específico para un péptido antigénico extraño más una molécula MHC propia también pueden reaccionar en forma cruzada con ciertas moléculas MHC alogénicas. En otras palabras, si una molécula MHC alogénica más un péptido alogénico se asemejan estructuralmente a un péptido extraño procesado aunado a una molécula MHC propia, el mismo receptor de célula T puede reconocer ambos complejos péptido-MHC. Puesto que las células alogénicas expresan moléculas MHC clase I en el orden de 10^5 por célula, las células T que llevan receptores de reactividad cruzada de baja afinidad podrían ser capaces de unirse en virtud de la densidad alta de aloantígeno de membrana. Por otra parte, el antígeno extraño se exhibiría escasamente en la membrana de una célula presentadora de antígeno o una célula propia alterada vinculada con moléculas MHC clase I o clase II, lo que limita la respuesta sólo a las células T que portan receptores de alta afinidad.

J. B. Reiser y colaboradores obtuvieron información acerca de los mecanismos de la unión de TCR alorreactivos al determinar la estructura de un TCR de ratón en complejo con una molécula clase I alogénica que contenía un octapéptido unido. Este análisis reveló una estructura similar a las publicadas para la unión de TCR a complejos MHC clase I propios y llevó a los autores a concluir que el reconocimiento alogénico no difiere del reconocimiento de moléculas MHC propias.

El reconocimiento real de MHC extraño puede ser directo (las células T reconocen moléculas MHC alogénicas en células ajenas como si fueran moléculas MHC propias) o indirecto, lo cual significa que las células T reconocen MHC extraño después de que éste es procesado y algunos de sus fragmentos se presentan unidos a MHC propio (fig. 9-16). Las dos opciones podrían dar origen a una gran cantidad de combinaciones reconocibles por las células T del hospedador. En el modelo indirecto, la ausencia de selección negativa de los péptidos contenidos en las moléculas MHC extrañas puede contribuir a la alta frecuencia de células T alorreactivas. Esta condición, aunada a las diferencias en la estructura de las porciones expuestas de la molécula MHC alogénica, podría explicar el fenómeno de alorreactividad. Una explicación del gran número de células alorreactivas puede encontrarse en el gran número de antígenos potenciales aportados por la molécula MHC extraña más los posibles antígenos peptídicos ya unidos a moléculas MHC ajenas en el momento en que son procesados para su presentación.

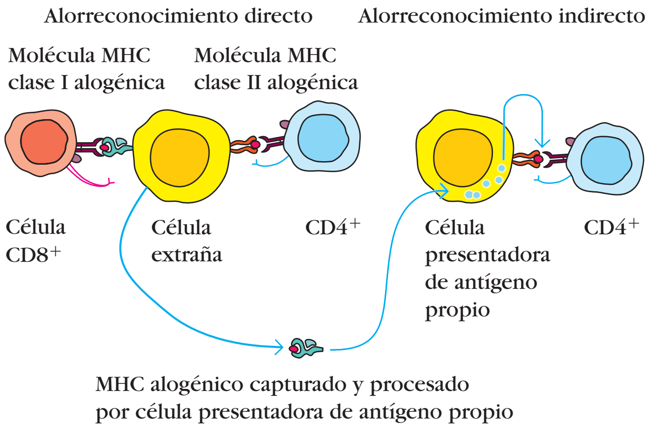

Alorreconocimiento directo
Alorreconocimiento indirecto
Molécula MHC clase I alogénica
Molécula MHC clase II alogénica
Célula CD8+
Célula extraña
CD4+
Célula presentadora de antígeno propio
CD4+
MHC alogénico capturado y procesado por célula presentadora de antígeno propio

FIGURA 9-16 La alorreactividad de las células T puede resultar del reconocimiento directo o indirecto de antígenos. En el modelo directo, la molécula MHC no propia es reconocida en su forma nativa intacta. El reconocimiento indirecto resultaría de péptidos derivados de la molécula MHC presentados en el contexto de moléculas MHC propias. *[Adaptada de A. Whitelegg and L. D. Barber, 2004,* Tissue Antigens ***63:****101.]*

La alorreactividad también puede aportar indicios sobre la interrogante general acerca de la reactividad cruzada o "promiscuidad" del TCR, con consecuencias para el entendimiento de la autorreactividad y la etiología de la enfermedad autoinmunitaria. En un elegante estudio diseñado para medir el grado de reactividad cruzada del TCR, Garcia y colegas desarrollaron una biblioteca de decapéptidos en la cual se introdujeron sustituciones de los 20 aminoácidos en cada una de las posiciones de 10 residuos. Esta biblioteca combinatoria se estudió usando un TCR que se sabe reconoce un péptido en la proteína básica mielina (MBP) en el contexto de una molécula MHC clase II de ratón. La estructura tridimensional del complejo se ha determinado, y antes se habían identificado los residuos de contacto con el TCR. Los investigadores descubrieron que los péptidos de la biblioteca combinatoria, que representaban todas las posibles sustituciones en todos los sitios del péptido, no reaccionaban en absoluto con el TCR cuando los aminoácidos se sustituían en regiones del péptido implicadas en la fijación o anclaje a las moléculas MHC. Además, mientras que una cantidad sorprendente de sustituciones en las otras posiciones del péptido dieron por resultado algún grado de reconocimiento, éste fue uniformemente mucho menor que el observado para el antígeno original. Las sustituciones en posiciones que se sabe entran en contacto con el sitio de unión del TCR por lo general tuvieron el mayor efecto negativo en la afinidad, lo que condujo a los autores a concluir que sólo es probable que el TCR se una con alta afinidad con combinaciones MHC-péptido únicas, mientras que se une con mucho menor afinidad a todas las variantes, lo cual indica que el peligro que el TCR interactúe de manera promiscua es bastante bajo. En consecuencia, la reactividad cruzada del TCR probablemente sólo tiene importancia biológica en condiciones excepcionales, como en el caso de la autorreactividad que desemboca en enfermedad inmunitaria.

RESUMEN

- A diferencia de los anticuerpos, la mayor parte de los receptores de células T no reacciona con antígenos dobles sino más bien con el antígeno procesado unido a una molécula MHC propia.
- Los receptores de célula T, aislados por primera vez mediante anticuerpos monoclonales clonotípicos, son heterodímeros que consisten en una cadena α y una β o una cadena γ y una δ; ciertos receptores γδ reconocen antígenos no procesados ni presentados por el MHC.
- Las cadenas del receptor de célula T unido a la membrana se organizan en los dominios variable y constante. Los dominios del TCR son similares a los de las inmunoglobulinas y la región V tiene regiones hipervariables.

- El DNA de la línea germinal del TCR está organizado en familias multigénicas que corresponden a las cadenas α, β, γ y δ. Cada familia contiene múltiples segmentos génicos.
- Por lo general los mecanismos que originan la diversidad del TCR son similares a los que generan la diversidad de anticuerpos, aunque en los genes del TCR no ocurre mutación somática como sucede en los genes de inmunoglobulina.
- El receptor de célula T se relaciona de manera estrecha con CD3, un complejo de cadenas polipeptídicas que participa en la transducción de señales; el CD3 se requiere para la expresión superficial del TCR.
- Las células T expresan moléculas de membrana, inclusive CD4, CD8, CD2, LFA-1, CD28 y CD45R, que desempeñan funciones accesorias en la actividad de la célula T o la transducción de señales.
- La formación del complejo ternario TCR-antígeno-MHC requiere la unión de un péptido a la molécula MHC y la unión del complejo por el receptor de célula T.
- Las interacciones entre TCR y MHC clase I-péptido difieren de las de MHC clase II-péptido en los puntos de contacto entre el TCR y las moléculas MHC.
- El receptor de célula T γδ se distingue del αβ por su capacidad de unir antígenos naturales y por las diferencias en la orientación de las regiones variable y constante.
- Además de reaccionar con MHC propio más antígenos extraños, las células T también responden a moléculas MHC extrañas, una reacción que conduce al rechazo de injertos alogénicos.

Bibliografía

Adams, E. J., Y-H. Chien, and K. C. Garcia. 2005. Structure of a γδ T cell receptor in complex with the nonclassical MHC T22. *Science* **308:**227.

Allison, T. J., et al. 2001. Structure of a human γδ T-cell antigen receptor. *Nature* **411:**820.

Baum, T-P., et al. 2004. IMGT/Geneinfo: Enhancing V(D)J recombination database accessibility. *Nucleic Acids Research* **32:**D51.

Call, M. E., and K. W. Wucherpfennig. 2004. Molecular mechanisms for the assembly of the T cell receptor-CD3 complex. *Molecular Immunology* **40:**1295.

Chen, Z. W., and N. L. Letvin. 2003. Vγ2Vδ2 + T cells and antimicrobial immune reponses. *Microbes and Infection* **5:**491.

Davis, S. J., et al. 2003. The nature of molecular recognition by T cells. *Nature Immunology* **4:**217.

Gao, G. F., et al. 1997. Crystal structure of the complex between human CD8αα and HLA-A2. *Nature* **387:**630.

Garboczi, D. N., et al. 1996. Structure of the complex between human T-cell receptor, viral peptide, and HLA-A2. *Nature* **384:**134.

Garcia, K. C., et al. 1996. An αβ T-cell receptor structure at 2.5 Å and its orientation in the TCR-MHC complex. *Science* **274:**209.

Garcia, K. C., et al. 1998. T-cell receptor-peptide-MHC interactions: biological lessons from structural studies. *Current Opinions in Biotechnology* **9:**338.

Hodges, E., et al. 2003 Diagnostic role of tests for T cells receptor (TCR) genes. *Journal of Clinical Pathology* **56:**1.

Kabelitz, D., et al. 2000. Antigen recognition by γδ T Lymphocytes. *International Archives of Allergy and Immunology* **122:**1.

Krogsgaard, M., and M.M. Davis. 2005. How T cells “see” antigen. *Nature Immunology*. **6:**239.

Maynard, J., et al. 2005. Structure of an autoimmune T-cell receptor complexed with class II peptide-MHC: insights into MHC bias and antigen specificity. *Immunity* **22:**81.

Reinherz, E., et al. 1999. The crystal structure of a T-cell receptor in complex with peptide and MHC class II. *Science* **286:**1913.

Reiser, J-B., et al. 2000. Crystal structure of a T-cell receptor bound to an allogeneic MHC molecule. *Nature Immunology* **1:**291.

Whitelegg, A., and L. D. Barber. 2003. The structural basis of T-cell recognition. *Tissue Antigens* **63:**101.

Xiong, Y., et al. 2001. T-cell receptor binding to a pMHCII ligand is kinetically distinct from and independent of CD4. *Journal of Biological Chemistry* **276:**5659.

Zinkernagel, R. M., and P. C. Doherty. 1974. Immunological surveillance against altered self-components by sensitized T lymphocytes in lymphocytic choriomeningitis. *Nature* **251:**547.

Sitios útiles de la red

http://imgt.cines.fr

Una base de datos amplia de información genética respecto a los TCR, las moléculas MHC y las inmunoglobulinas de la International ImmunoGenetics Database, Universidad de Montpellier, Francia.

http://www.bioscience.org/knockout/tcrab.html

Este sitio presenta un breve resumen de los efectos de las desactivaciones del TCR.

http://mif.dfci.harvard.edu/Tools/rankpep.html

Este servidor predice cuáles péptidos se unirán a moléculas MHC clase I y clase II con base en secuencias proteínicas o alineaciones de secuencias usando matrices de puntaje específicas de posición (PSSM).

Preguntas de estudio

PREGUNTA DE ENFOQUE CLÍNICO Un paciente presenta un ganglio linfático crecido y se sospecha un linfoma de células T. Sin embargo, la muestra de DNA del tejido de biopsia no mostró pruebas de un reordenamiento génico predominante cuando se sondeó con genes de TCR α y β. ¿Qué debe realizarse después para descartar una afección maligna linfocítica?

1. Indique si cada una de las afirmaciones siguientes es verdadera o falsa. Si piensa que una afirmación es falsa, explique por qué.
   a. El anticuerpo monoclonal específico para CD4 coprecipitará el receptor de célula T junto con CD4.
   b. La hibridación sustractiva puede utilizarse para enriquecer el mRNA que está presente en un tipo celular pero ausente en otro tipo de células dentro de la misma especie.
   c. El anticuerpo monoclonal clonotípico se usó para aislar el receptor de células T.
   d. La célula T utiliza el mismo grupo de segmentos génicos V, D y J que la célula B pero diferentes segmentos génicos C.
   e. El TCR αβ es bivalente y tiene dos sitios de unión de antígeno.

f. Cada célula T αβ sólo expresa un alelo de cadena β y uno de cadena α.
g. Los mecanismos para generar la diversidad de receptores de célula T son idénticos a los que usan las inmunoglobulinas.
h. El heterodímero Ig-α/Ig-β y CD3 tienen funciones análogas en el receptor de célula B y el receptor de célula T respectivamente.

2. ¿Qué llevó a Zinkernagel y Doherty a concluir que el reconocimiento por el receptor de célula T requiere tanto antígeno como moléculas MHC?

3. Dibuje la estructura básica del receptor de célula T αβ y compárelo con la estructura básica de la inmunoglobulina unida a membrana.

4. Además del receptor de célula T, varias moléculas de la membrana participan en el reconocimiento de antígeno y la activación de las células T. Describa las propiedades y funciones precisas de las siguientes moléculas de membrana de la célula T: a) CD3; b) CD4 y CD8, y c) CD2.

5. Indique si cada una de las propiedades que se enumeran a continuación se aplica al TCR, la Ig de células B o ambos (TCR/Ig).

a. ________ Se relaciona con CD3
b. ________ Es monovalente
c. ________ Se presenta en las formas unida a membrana y secretada
d. ________ Contiene dominios con la estructura de pliegue de la inmunoglobulina
e. ________ Es restringido por MHC
f. ________ Muestra diversidad generada por la unión imprecisa de segmentos génicos
g. ________ Exhibe diversidad originada por mutación somática

6. Un obstáculo mayor para identificar y clonar los genes de TCR es la concentración baja de mRNA de TCR en células T.

a. A fin de superar este obstáculo, Hedrick y Davis hicieron tres suposiciones importantes que resultaron correctas. Describa cada suposición y cómo facilitó la identificación de los genes que codifican el receptor de célula T.
b. Suponga, por el contrario, que Hedrick y Davis deseaban identificar los genes que codifican IL-4. ¿Qué cambios en las tres suposiciones debieron hacer?

7. Hedrick y Davis utilizaron la técnica de hibridación sustractiva para aislar clonas de cDNA que codifican el receptor de célula T. Se desea utilizar esta técnica para aislar clonas de cDNA que codifiquen varios productos génicos y disponer de clonas de diversos tipos de células para usarlas como fuente de cDNA o mRNA con fines de hibridación. Para cada producto génico que se lista en la columna izquierda del siguiente cuadro, elija lo más apropiado.

Producto génico	**Fuente del cDNA**	**Fuente del mRNA**
IL-2		
CD8		
Cadena J		
IL-1		
CD3		

Las clonas originales de cDNA y mRNA son de los tipos celulares siguientes: línea celular T_H1 (A), línea celular T_H2 (B), línea celular T_C (C), macrófago (D), célula de mieloma secretor de IgA (E), célula de mieloma secretor de IgG (F), célula progenitora mieloide (G) y línea de célula B (H). En algunos casos puede ser correcto más de un tipo celular.

8. Los ratones de diferentes cepas endogámicas que se enumeran en la columna de la izquierda del cuadro siguiente se infectaron con virus LCM. Luego se estudiaron células esplénicas derivadas de estos ratones infectados con LCM para valorar su capacidad de lisar células blanco infectadas con LCM marcadas con ^{51}Cr de las cepas que se enumeran en la parte superior del cuadro. Indique con (+) o (−) si esperaría observar ^{51}Cr liberado de las células blanco marcadas.

Fuente de células esplénicas de ratones infectados por LCM	**Liberación de ^{51}Cr desde células blanco infectadas por LCM**			
	B10.D2 (H-2^{d})	**B10 (H-2^{b})**	**B10.BR (H-2^{k})**	**(BALB/c × B10) F_1 (H-2$^{b/d}$)**
B10.D2 (H-2^{d})				
B10 (H-2^{b})				
BALB/c (H-2^{d})				
BALB/b (H-2^{b})				

9. El receptor de célula T γδ difiere del αβ tanto en los parámetros estructurales como en los funcionales. Describa cómo son *similares* entre sí y diferentes de los receptores de antígeno de las células B.

10. Una proporción sorprendentemente grande de células T son alorreactivas. Explique cómo es posible que hasta una de cada 20 células T sea capaz de reaccionar a aloinjertos.

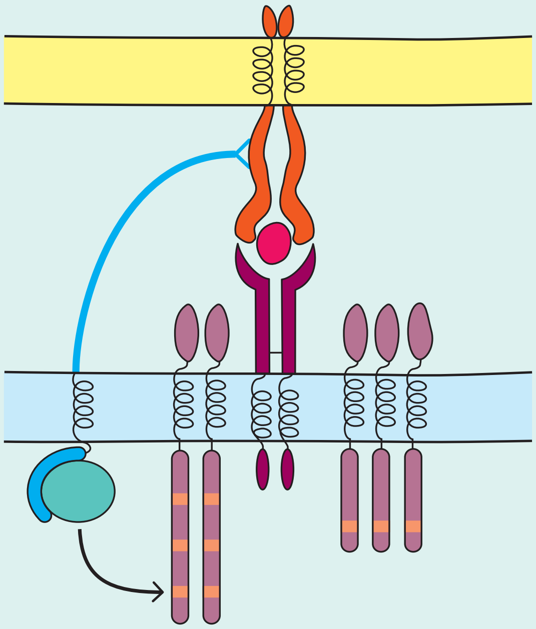
11. Un investigador sigiloso y reservado determinó una estructura tridimensional para una molécula TCR en complejo con su antígeno. El investigador desapareció del laboratorio abruptamente, sin decir dónde podría localizársele, pero dejó una estructura completa en alta resolución. ¿Cuáles características de la estructura inspeccionaría usted para identificar de cuál tipo de TCR se trata? ¿Cómo podría obtener información acerca del antígeno y la molécula MHC presentadora si alguno de ellos existe?

12. Los ratones con desactivación del gen para la cadena α del TCR prosperan mucho más que los sometidos a desactivación del gen para la cadena ζ de CD3. ¿Puede explicar por qué?

13. Compare los mecanismos para la generación de diversidad en el TCR αβ y en el BCR. Comente sobre ambas subunidades para cada receptor en su respuesta.

capítulo 10

Maduración, activación y diferenciación de la célula T



La unión del TCR a péptido-MHC inicia la transducción de señales.

- Timo y maduración de la célula T
- Selección tímica del repertorio de células T
- Activación de la célula T
- Diferenciación de la célula T
- Muerte celular y poblaciones de células T

El atributo que distingue el reconocimiento de antígeno que realizan la mayoría de las células T del que llevan a cabo las células B es la restricción en cuanto al complejo mayor de histocompatibilidad (MHC). En casi todos los casos, la participación de moléculas MHC modifica la maduración de células T progenitoras en el timo y la activación de células T maduras en la periferia. La posible diversidad antigénica de la población de células T se reduce durante la maduración por un proceso de selección que sólo permite que maduren células T restringidas al MHC y no reactivas a lo propio. Las etapas finales de la maduración de la mayor parte de las células T prosiguen a lo largo de dos vías de desarrollo diferentes, que generan subpoblaciones $CD4^+$ y $CD8^+$, distintas desde el punto de vista funcional, que muestran restricción a MHC clase II y clase I, respectivamente.

La activación de células T periféricas maduras se inicia con la interacción del receptor de célula T (TCR) con un péptido antigénico exhibido en el surco de una molécula MHC. Aunque la especificidad de esta interacción es regida por el TCR, su baja afinidad requiere la participación de correceptores y otras moléculas de membrana accesorias que refuerzan la interacción TCR-antígeno-MHC y transducen la señal activadora. La activación conduce a la proliferación y diferenciación de células T en diversos tipos de células efectoras y células T de memoria. Debido a que la inmensa mayoría de los timocitos y células T periféricas expresan el receptor de célula T αβ y no el γδ, en este capítulo todo lo expuesto acerca del receptor de célula T se refiere al receptor αβ, en tanto no se indique de otra manera.

Timo y maduración de la célula T

Las células T progenitoras comienzan a migrar de los sitios iniciales de la hematopoyesis al timo alrededor del día 11 de la gestación en ratones y a las ocho o nueve semanas del embarazo en seres humanos. De modo similar a como ocurre en la maduración de la célula B en la médula ósea, la maduración de la célula T incluye reordenamientos de los genes de TCR de la línea germinal y la expresión de diversos marcadores de membrana. En el timo, las células T en desarrollo, que se conocen como **timocitos**, proliferan y se diferencian a lo largo de vías del desarrollo que generan subpoblaciones funcionalmente distintas de células T maduras.

Como se indica en el capítulo 2, el timo tiene un papel central en la biología de la célula T. Además de ser el origen principal de todas las células T, es en el sitio en que éstas se diversifican y a continuación se configuran en un repertorio eficaz de células T primarias por dos procesos de selección extraordinarios. Uno de ellos, la **selección positiva**, permite la supervivencia sólo de aquellas células T cuyos TCR son capaces de reconocer moléculas MHC propias. Por consiguiente, tiene a su cargo la creación de un repertorio de células T restringidas al MHC propio. El otro proceso, la **selección negativa**, elimina las células T que reaccionan demasiado intensamente con el MHC propio o con MHC propio más péptidos propios. La selección negativa es un factor en extremo importante en la generación de un repertorio primario de células T que tolera lo propio.

El desarrollo de las células T comienza con la llegada de pequeñas cantidades de precursores linfoides que migran desde la sangre hacia el timo, donde proliferan, se diferencian y experimentan procesos de selección que dan por resultado el desarrollo de células T maduras. Hasta fechas recientes se creía que la arquitectura intacta del timo era una condición necesaria para este proceso del desarrollo. En años anteriores, los estudios in vitro acerca del desarrollo de las células T se limitaban al cultivo de órganos, específicamente el cultivo in vitro de fragmentos del timo fetal. Esto contrasta con el desarrollo de las células B, que puede recapitularse in vitro usando un preparado de células madre de la médula ósea cultivadas sobre células estromales en presencia de citocinas apropiadas. En un gran avance logrado en 2002, J. C. Zuniga-Pfluker y colaboradores demostraron que era posible inducir el desarrollo de las células T en ausencia de fragmentos tímicos cuando se cultivaban células madre de la médula ósea sobre una línea celular estromales que expresaban un ligando para el receptor de membrana de célula T llamado Notch (del inglés, *muesca*). En retrospectiva, varias líneas de evidencia (incluido el descubrimiento de que las células T tempranas en que se desactivaba el gen *Notch 1* no maduraban) habían sugerido el requisito de que estuviera presente la vía de señalización mediada por Notch para el desarrollo de células T in vitro. (*Notch 1* es uno de los cuatro miembros de la familia Notch.) Como se muestra en la figura 10-1, el desarrollo de células madre hematopoyéticas (HSC) sobre células estromales que expresan ligando Notch activa el desarrollo de estas células madre multipotentes para convertirse en el linaje T. De hecho, la expresión forzada de Notch en HSC da por resultado linfocitos T en animales pero no linfocitos B. Esto nos dice que la expresión de una proteína, Notch, puede redirigir una célula B potencial hacia el linaje T, y establece firmemente a Notch como una proteína clave en la especificación del linaje T.

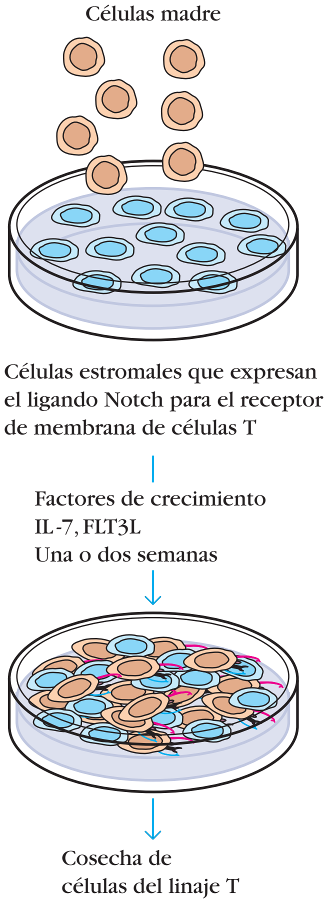
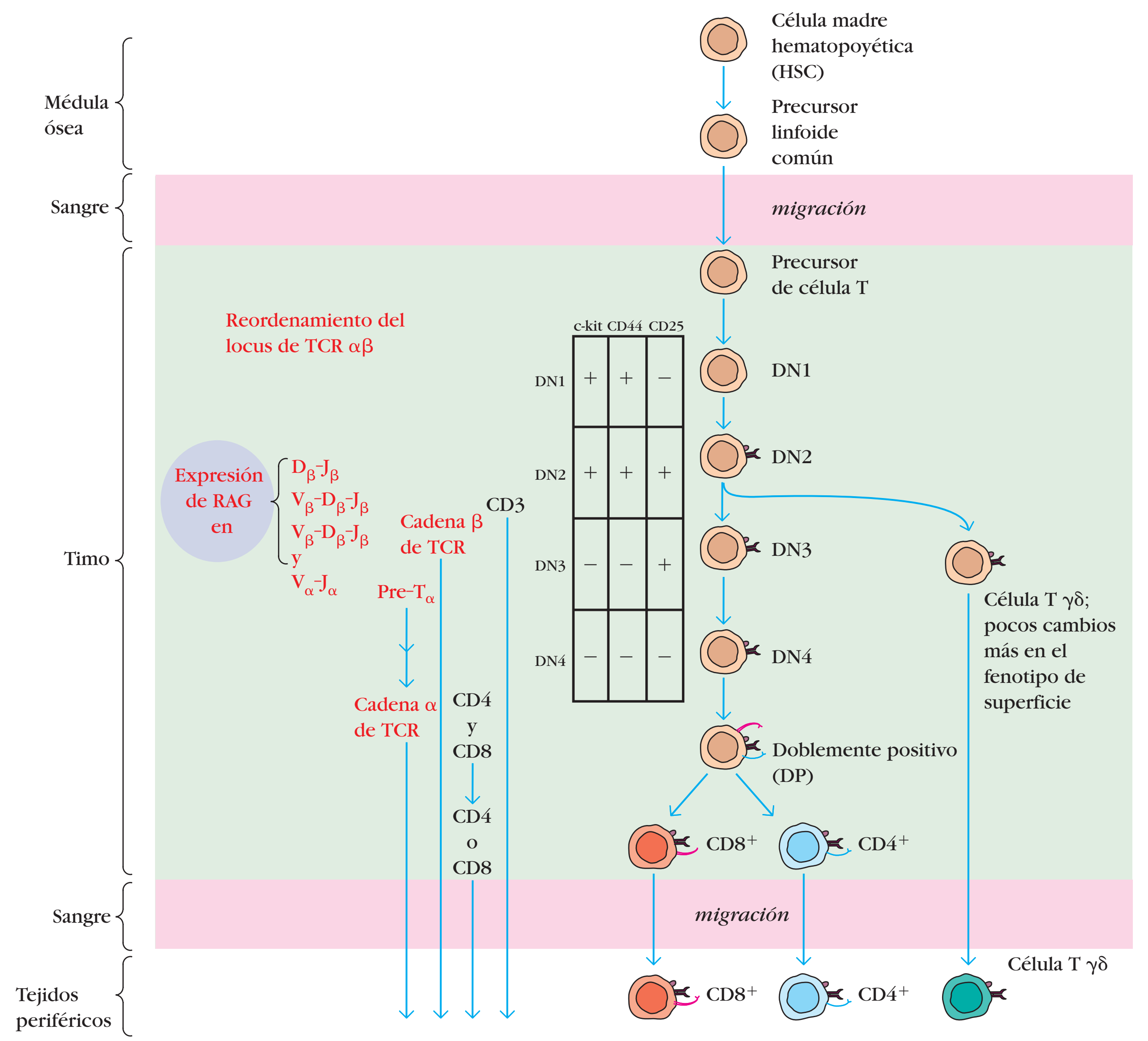

Células madre
Células estromales que expresan el ligando Notch para el receptor de membrana de células T
Factores de crecimiento
IL-7, FLT3L
Una o dos semanas
Cosecha de células del linaje T

FIGURA 10-1 Desarrollo de células T a partir de células madre hematopoyéticas cultivadas sobre células estromales de médula ósea que expresan el ligando Notch. *[Adaptada de J. C. Zuniga-Pflucker, 2002,* Nature Reviews Immunology ***4:****67-72.]*

Como se muestra en la figura 10-2, cuando llegan al timo, los precursores de la célula T no expresan los marcadores de superficie que identifican a las células T, como el receptor de célula T, el complejo CD3 o los correceptores CD4 y CD8. De hecho, estas células progenitoras aún no reordenan sus genes de TCR y no expresan las proteínas, como RAG-1 y RAG-2, que se requieren para la reordenación. Una vez que llegan al timo, estos precursores de la célula T penetran en la corteza externa y proliferan con lentitud. Durante el transcurso de unas tres semanas de desarrollo en el timo, las células T en diferenciación progresan a través de una serie de etapas que se caracterizan por cambios distintivos en su fenotipo de superficie celular. Por ejemplo, como se mencionó, en un momento temprano del desarrollo los timocitos carecen de CD4 y CD8 detectables. Debido a que estas células son $CD4^{-}CD8^{-}$, se denominan **doblemente negativas (DN)**. De hecho, las células T DN pueden agruparse en cuatro subconjuntos (DN1 a 4) caracterizados por la presencia o ausencia de moléculas de superficie celular además de CD4 y CD8, como c-Kit, el receptor de factor de crecimiento de células madre; CD44, una molécula de adhesión; y CD25, la cadena α del receptor de IL-2. Las células que ingresan en el timo —células DN1— son capaces de dar origen a todos los subconjuntos de células T y son fenotípicamente $c\text{-kit}^{+}$, $CD44^{alto}$ y $CD25^{-}$. Una vez que las células DN1 encuentran el ambiente tímico, comienzan a proliferar y a expresar CD25, con lo que se convierten en $c\text{-kit}^{+}$, $CD44^{bajo}$ y $CD25^{+}$. Estas células se denominan células DN2. Durante la crítica fase DN2 del desarrollo comienza el reordenamiento de los genes para las cadenas TCR γ, δ y β; sin embargo, el locus TCR α no se reordena, debido presumiblemente a que la región de DNA que codifica los genes TCR α es muy compacta y no es accesible para la maquinaria de la recombinasa. A medida que la célula pasa a DN3, la expresión tanto de c-kit como de CD44 se desactiva y avanzan los reordenamientos de TCRγ, TCRδ y TCRβ. Las células destinadas a convertirse en células T γδ (un pequeño porcentaje [<5%] de los timocitos maduros) divergen en la transición entre DN2 y DN3 y se transforman en células T γδ maduras con muy pocos cambios en su fenotipo de superficie. En ratones, esta subpoblación de timocitos puede detectarse hacia el día 14 de la gestación, alcanza cifras máximas entre los días 17 y 18, y luego declina hasta el nacimiento (fig. 10-3). La mayoría de las células DN2 está destinada a dar origen a células T αβ, y al asumir el fenotipo DN3 ($c\text{-kit}^{-}$, $CD44^{-}$ y $CD25^{+}$) las células detienen su proliferación; en el citoplasma de éstas se detectan productos proteínicos de los reordenamientos de TCRβ. Las cadenas β recién sintetizadas se combinan con una glucoproteína de 33 kDa conocida como cadena pre-Tα y se unen al grupo CD3 para formar un complejo llamado **receptor de célula pre-T** o **pre-TCR** (fig. 10-4). Debe hacerse notar que las proteínas Notch tienen una función principal en este punto del desarrollo de las células T: las células que no expresan Notch no maduran más allá de esta etapa.

FIGURA 10-2 PARA VISUALIZACIÓN DE CONCEPTOS: Desarrollo de células T en el ratón


Médula ósea
Sangre
Timo
Sangre
Tejidos periféricos
Célula madre hematopoyética (HSC)
Precursor linfoide común
migración
Precursor de célula T
Reordenamiento del locus de TCR αβ
c-kit CD44 CD25
DN1 + + –
DN2 + + +
DN3 – – +
DN4 – – –
DN1
DN2
DN3
DN4
Expresión de RAG en
Dβ-Jβ
Vβ-Dβ-Jβ
Vβ-Dβ-Jβ
y
Vα-Jα
Cadena β de TCR
CD3
Pre-Tα
Cadena α de TCR
CD4 y CD8
CD4 o CD8
Célula T γδ; pocos cambios más en el fenotipo de superficie
Doblemente positivo (DP)
CD8+
CD4+
migración
Célula T γδ
CD8+
CD4+

Los precursores de células T llegan al timo desde la médula ósea a través del torrente sanguíneo, se transforman en células T maduras y se trasladan a la periferia en donde pueden experimentar activación inducida por antígeno y diferenciación hacia células efectoras y de memoria. Cada etapa del desarrollo se caracteriza por fenómenos intracelulares específicos de etapa y la exhibición de marcadores de superficie celular característicos.

La formación del pre-TCR activa una vía de transducción de señales la cual tiene varias consecuencias:

- Indica que una célula efectuó un reordenamiento productivo de cadena β de TCR y señala su proliferación y maduración adicionales.
- Suprime el reordenamiento adicional de los genes de cadena β de TCR, lo que tiene como resultado la exclusión alélica.
- Torna a la célula permisiva para el reordenamiento de la cadena α del receptor de célula T (TCR).
- Induce una progresión del desarrollo al estado $CD4^+CD8^+$ *doblemente positivo.*

Una vez que se completa el reordenamiento de la cadena β, las células DN3 pasan con rapidez a DN4, la concentración de CD25 cae, y se expresan correceptores CD4 y CD8. Esta etapa de células **doblemente positivas (DP)** es un período de rápida

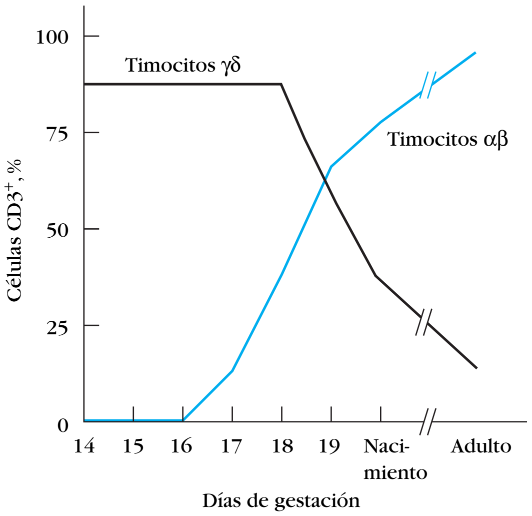


FIGURA 10-3 Evolución temporal de la aparición de timocitos γδ y αβ durante el desarrollo fetal del ratón. La gráfica muestra el porcentaje de células CD3$^+$ en el timo que son doblemente negativas (CD4$^-$8$^-$) y portan el receptor de célula T γδ (negro) o doblemente positivas (CD4$^+$8$^+$) y portan el receptor de célula T αβ (azul).

proliferación. Sin embargo, el reordenamiento de los genes de la cadena α del TCR aún no ha ocurrido en este momento. Tal reordenamiento no se inicia sino hasta que los timocitos doblemente positivos dejan de proliferar y aumentan las concentraciones de proteína RAG-2. La fase proliferativa anterior al reordenamiento de la cadena α eleva la diversidad del repertorio de células T y genera una clona de células con un reordenamiento de cadena β de TCR única. Cada una de las células dentro de esta clona puede reordenar a continuación un gen de cadena α diferente y crear por tanto una población mucho más diversa que si el reordenamiento de la célula original ocurriera en los loci de cadenas β y α antes de proliferar. En ratones, los genes de cadena α de TCR no se expresan sino hasta los días 16 o 17 de la gestación; el día 17 comienzan a aparecer células doblemente positivas que expresan CD3 y el receptor de célula T αβ y alcanzan sus concentraciones máximas hacia el nacimiento (fig. 10-3). La posesión de un TCR completo permite a los timocitos DP experimentar los rigores de la selección positiva y negativa.

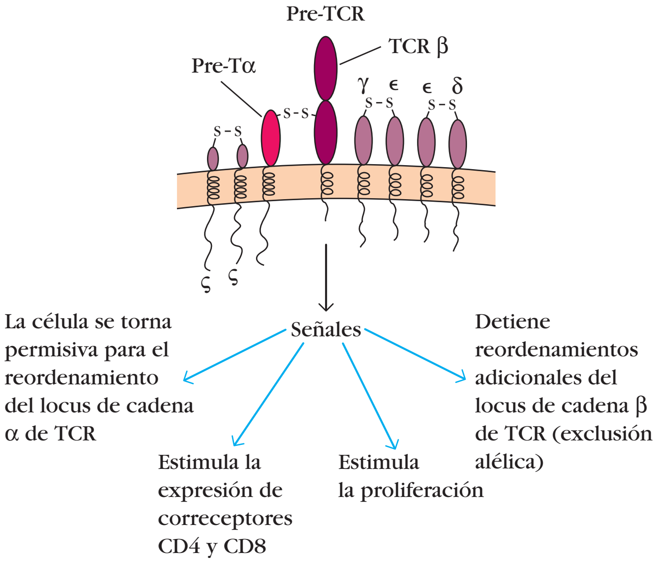

Pre-TCR
Pre-Tα
TCR β
γ
ϵ
ϵ
δ
S-S
S-S
S-S
S-S
↓
Señales
La célula se torna permisiva para el reordenamiento del locus de cadena α de TCR
Estimula la expresión de correceptores CD4 y CD8
Estimula la proliferación
Detiene reordenamientos adicionales del locus de cadena β de TCR (exclusión alélica)

FIGURA 10-4 Estructura y actividad del receptor de célula pre-T (pre-TCR). La unión de ligandos aún por identificar al pre-TCR genera señales intracelulares que inducen una diversidad de procesos.

El desarrollo de la célula T es un proceso costoso para el hospedador. Se estima que 98% de todos los timocitos no maduran (mueren por apoptosis dentro del timo, ya sea porque no realizaron un reordenamiento productivo del gen de TCR o porque no sobrevivieron a la selección tímica). Los timocitos doblemente positivos que expresan el complejo TCR αβ-CD3 y sobreviven a la selección tímica se convierten en timocitos **CD4$^+$ unipositivos** o timocitos **CD8$^+$ unipositivos** inmaduros. Estas células unipositivas sufren una selección negativa adicional y migran de la corteza a la médula, en donde pasan del timo al sistema circulatorio.

Selección tímica del repertorio de células T

El reordenamiento génico aleatorio dentro del DNA de la línea germinal del TCR, en combinación con la diversidad de unión, puede establecer un enorme repertorio de TCR, con una posible diversidad estimada de más de 10^{15} para el receptor αβ y 10^{18} para el receptor γδ. Los productos génicos codificados por los genes de TCR reordenados no tienen afinidad inherente por antígeno extraño más una molécula MHC propia; en teoría, deben ser capaces de reconocer antígeno soluble (extraño o propio), moléculas MHC propias o antígeno más una molécula MHC extraña. No obstante, la propiedad más distintiva de las células T maduras es que sólo reconocen antígeno extraño en combinación con moléculas MHC propias.

Como ya se dijo, los timocitos experimentan dos procesos de selección en el timo:

- Selección positiva de timocitos que llevan receptores capaces de unir moléculas MHC propias, lo que tiene como resultado **restricción a MHC**. Las células que fracasan en la selección positiva se eliminan dentro del timo por apoptosis.
- Selección negativa que elimina timocitos que portan receptores de alta afinidad por moléculas MHC propias solas o por antígeno propio presentado por MHC propio, lo que causa **autotolerancia**.

Ambos procesos son necesarios para crear células T maduras restringidas a MHC propio y autotolerantes. Como se mencionó, 98% o más de todos los timocitos muere por apoptosis dentro del timo. Al parecer, la alta mortalidad refleja la eliminación de timocitos que fracasan en la selección positiva porque sus receptores no reconocen de modo específico moléculas MHC propias. Estas células no reciben estimulación para proliferar y mueren debido a un proceso que se conoce como muerte por negligencia.

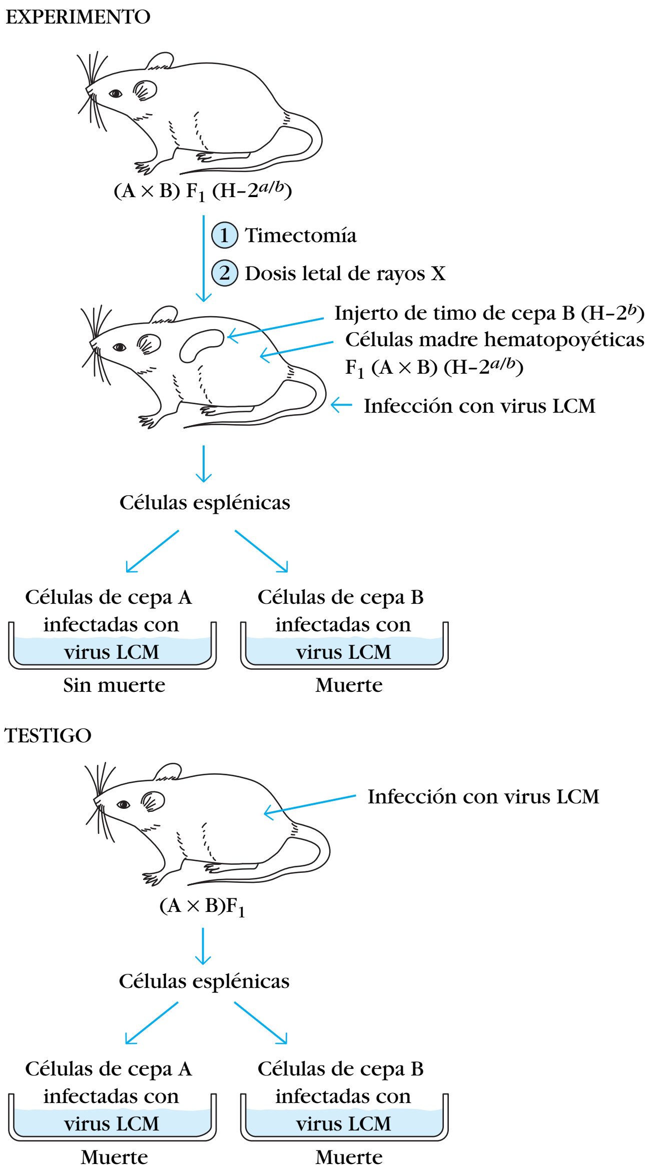

EXPERIMENTO
(A × B) F_1 (H–$2^{a/b}$)
① Timectomía
② Dosis letal de rayos X
Injerto de timo de cepa B (H–2^b)
Células madre hematopoyéticas F_1 (A × B) (H–$2^{a/b}$)
Infección con virus LCM
Células esplénicas
Células de cepa A infectadas con virus LCM
Células de cepa B infectadas con virus LCM
Sin muerte
Muerte
TESTIGO
Infección con virus LCM
(A × B)F_1
Células esplénicas
Células de cepa A infectadas con virus LCM
Células de cepa B infectadas con virus LCM
Muerte
Muerte

FIGURA 10-5 Demostración experimental que indica que el timo selecciona para maduración sólo las células T cuyos TCR reconocen antígeno presentado en células blanco con el haplotipo del timo. Los ratones F_1 (A × B) timectomizados y radiados en dosis letales recibieron injertos de timo de una cepa B y se reconstituyeron con células de médula ósea F_1 (A × B). Después de la infección con el virus LCM, se valoró la capacidad de las células CTL de destruir células blanco de las cepas A o B marcadas con ^{51}Cr infectadas con el virus LCM. Sólo se lisaron células blanco de la cepa B, lo que sugirió que el timo trasplantado H-2^b seleccionó para maduración sólo las células T que podían reconocer antígeno asociado con moléculas MHC H-2^b.

La prueba inicial del papel del timo en la selección del repertorio de células T provino de experimentos con ratones quiméricos realizados por R. M. Zinkernagel y colaboradores (fig. 10-5). Estos investigadores implantaron en ratones F_1 (A × B) timectomizados y radiados timo tipo B y a continuación reconstituyeron el sistema inmunitario de los animales con una venoclisis de células F_1 de médula ósea. Con el fin de asegurar que el injerto de timo no contenía ninguna célula T madura, se radió antes de trasplantarse. En este sistema experimental, las células T progenitoras del trasplante de médula ósea F_1 (A × B) maduraron dentro de un timo que sólo expresaba moléculas MHC haplotipo B en sus células estromales. ¿Se restringiría ahora el MHC de estas células T F_1 (A × B) al haplotipo del timo? Para responder esta pregunta, se infectó a los ratones quiméricos con virus LCM y luego se estudió la capacidad de las células T inmaduras de destruir células blanco infectadas con virus LCM de los ratones de las cepas A o B. Como se muestra en la figura 10-5, cuando se valoraron las células T_C de los ratones quiméricos en células blanco infectadas con virus LCM de los ratones de las cepas A o B, sólo pudieron lisar células blanco infectadas con virus LCM de ratones de la cepa B. Estos ratones tenían el mismo haplotipo B de MHC que el timo implantado. Por consiguiente, el haplotipo de MHC del timo en que se desarrollan las células T determina su restricción a MHC.

Las células estromales tímicas, incluidos células epiteliales, macrófagos y células dendríticas, tienen funciones esenciales en la selección positiva y negativa. Estas células expresan moléculas MHC clase I y asimismo pueden presentar concentraciones altas de MHC clase II. La interacción de timocitos inmaduros que expresan el complejo TCR-CD3 con poblaciones de células estromales tímicas tiene como resultado la selección positiva y negativa por mecanismos que se investigan intensamente. Primero se examinan los detalles de cada proceso de selección y luego se presentan algunos experimentos que arrojan luz sobre la operación de estos procesos.

La selección positiva asegura la restricción en MHC

La selección positiva se lleva a cabo en la región cortical del timo e incluye la interacción de timocitos inmaduros con células epiteliales corticales (fig. 10-6). Diversas pruebas indican que los receptores de células T en los timocitos tienden a aglutinarse con moléculas MHC en las células corticales y en sitios de contacto intercelular. Algunos investigadores sugieren que estas interacciones permiten que los timocitos inmaduros reciban una señal protectora que evita que sufran muerte celular; las células cuyos receptores no son capaces de unir moléculas MHC no interactúan con células epiteliales tímicas y en consecuencia no reciben la señal protectora, lo cual propiciaría su muerte por apoptosis.

Durante la selección positiva no dejan de expresarse las proteínas RAG-1, RAG-2 y TdT necesarias para el reordenamiento y la modificación génica (fig. 5-7). Por consiguiente, cada uno de los timocitos inmaduros en una clona que expresa una cadena β determinada tiene la oportunidad de reordenar diferentes genes de cadena α de TCR, y a continuación los TCR resultantes se seleccionan para reconocimiento de MHC propio. Sólo se seleccionan para sobrevivir las células cuyo heterodímero αβ de TCR reconoce una molécula MHC propia. De este modo, es importante la presencia de más de una combinación de cadenas αβ de TCR entre los miembros de la clona porque aumenta la posibilidad de que algunos miembros “pasen” la prueba para selección positiva. Se respeta cualquier célula que se las arregle para reordenar una cadena α que permita que el TCR αβ resultante reconozca MHC propio; todos los miembros de la clona

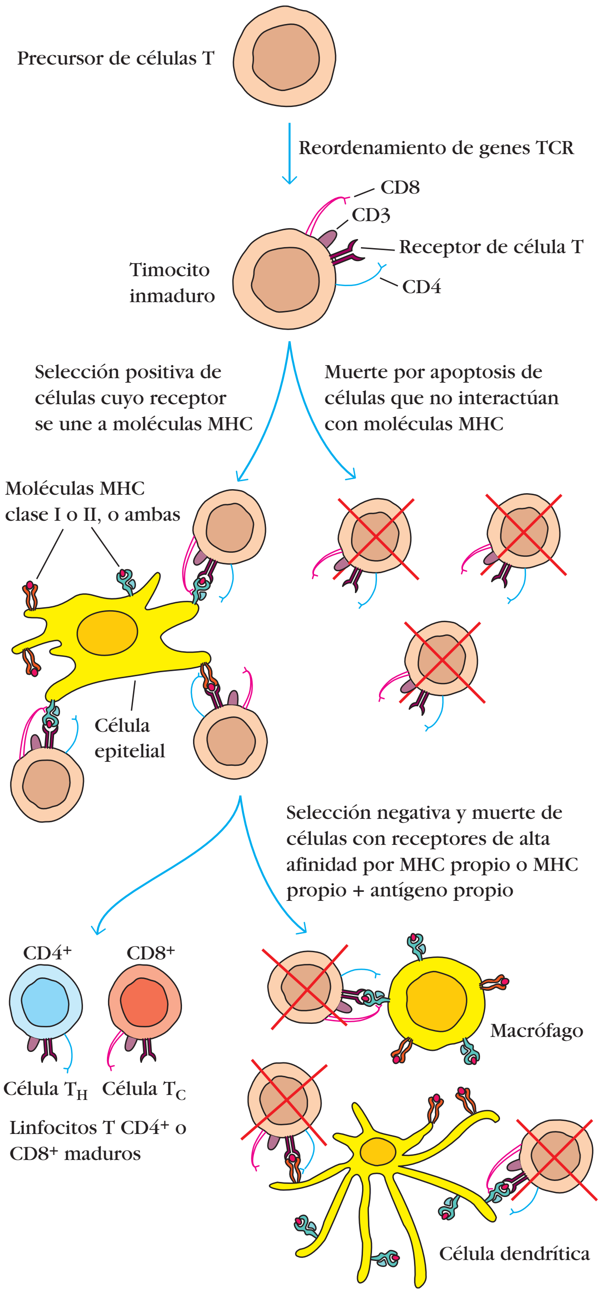

Precursor de células T
Reordenamiento de genes TCR
CD8
CD3
Receptor de célula T
CD4
Timocito inmaduro
Selección positiva de células cuyo receptor se une a moléculas MHC
Muerte por apoptosis de células que no interactúan con moléculas MHC
Moléculas MHC clase I o II, o ambas
Célula epitelial
Selección negativa y muerte de células con receptores de alta afinidad por MHC propio o MHC propio + antígeno propio
CD4$^+$
CD8$^+$
Célula T_H
Célula T_C
Linfocitos T CD4$^+$ o CD8$^+$ maduros
Macrófago
Célula dendrítica

FIGURA 10-6 Selección positiva y negativa de timocitos en el timo. La selección tímica incluye células del estroma tímico (células epiteliales, dendríticas y macrófagos) y tiene como resultado células T maduras que son tanto restringidas a MHC propio como autotolerantes.

que no lo logran mueren por apoptosis en el transcurso de tres a cuatro días.

La selección negativa asegura la autotolerancia

La población de timocitos restringidos en MHC que sobrevive a la selección positiva incluye células cuyos receptores de alta y baja afinidades para antígeno propio presentado por moléculas MHC propias. Los timocitos de alta afinidad son eliminados durante la selección negativa por una interacción con células del estroma tímico. Durante la selección negativa, células dendríticas y macrófagos que llevan moléculas MHC clases I y II interactúan con timocitos que portan receptores de alta afinidad por antígeno propio más moléculas MHC propias o por moléculas MHC propias solas (fig. 10-6). Sin embargo, aún no se conocen los detalles precisos del proceso. Se ha observado que las células sometidas a selección negativa mueren por apoptosis. Por consiguiente, la tolerancia a antígenos propios que se encuentran en el timo se logra al eliminar células T que son reactivas a estos antígenos.

Algunos experimentos revelaron los elementos esenciales de las selecciones positiva y negativa

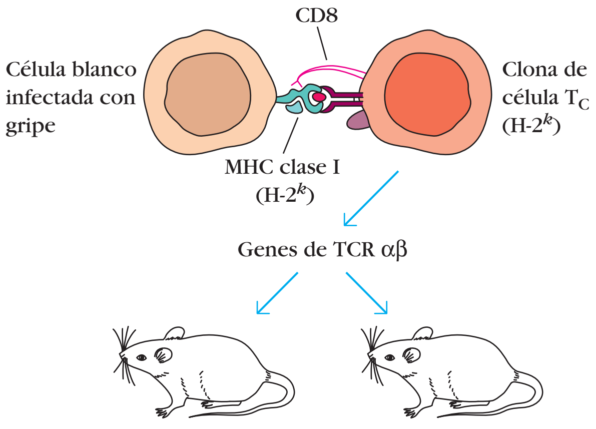
La prueba directa de que para la selección positiva en el timo se requiere la unión de timocitos a moléculas MHC clase I o II provino de estudios experimentales con ratones sometidos a una desactivación génica que los torna incapaces de producir moléculas MHC clase I o II funcionales (cuadro 10-1). Se encontró que los ratones con deficiencia de MHC I tenían una distribución normal de timocitos doblemente negativos, doblemente positivos y CD4$^+$, pero no producían timocitos CD8$^+$. Los ratones con deficiencia de la clase II tenían timocitos doblemente negativos, doblemente positivos y CD8$^+$, pero carecían de timocitos CD4$^+$. No es de sorprender que los ganglios linfáticos de estos ratones con deficiencia clase II carecían de células T CD4$^+$. Por tanto, la ausencia de moléculas MHC clase I o II previene la selección positiva de células T CD8$^+$ o CD4$^+$, respectivamente.

Experimentos adicionales con ratones transgénicos suministraron más pruebas que indicaron que la interacción con moléculas MHC participa en la selección positiva. En estos estudios se inyectaron genes de TCR αβ reordenados de una clona de células T CD8$^+$ específica para antígeno gripal más moléculas MHC clase I H-2^k en óvulos fecundados de dos cepas de ratón diferentes, una con el haplotipo H-2^k y otra con el haplotipo H-2^d (fig. 10-7). Debido a que los transgenes del receptor ya

CUADRO 10-1 Efecto de la deficiencia del complejo mayor de histocompatibilidad clase I o II en poblaciones de timocitos*

		RATONES CON DESACTIVACIÓN	
Tipo de célula	**Ratones testigo**	**Deficiente en clase I**	**Deficiente en clase II**
CD4$^-$CD8$^-$	+	+	+
CD4$^+$CD8$^+$	+	+	+
CD4$^+$	+	+	−
CD8$^-$	+	−	+

*El signo más (+) indica distribución normal en el timo de los tipos de células indicadas. El signo menos (−) señala la ausencia del tipo celular.


CD8
Célula blanco infectada con gripe
Clona de célula T_C (H-2^k)
MHC clase I (H-2^k)
Genes de TCR αβ

Timocitos en transgénicos	H-2^k transgénico	H-2^d transgénico
$TCR^+/CD4^+8^+$	+	+
$TCR^+/CD8^+$	+	−

FIGURA 10-7 Efecto del haplotipo del hospedador en la maduración de las células T en ratones portadores de transgenes que codifican un receptor de célula T restringido a clase I H-2^b específico para virus de la gripe. La presencia de los transgenes de TCR reordenados suprimió otros reordenamientos de genes en los transgénicos; por lo tanto, casi todos los timocitos en los transgénicos expresaron el receptor de célula T αβ codificado por el transgén. Los timocitos doblemente positivos inmaduros maduraron a células T $CD8^+$ sólo en transgénicos con el haplotipo (H-2^k) correspondiente a la restricción a MHC del transgén del receptor de célula T (TCR).

estaban reordenados, se suprimieron en los ratones transgénicos otros reordenamientos del gen de TCR; por ello, un alto porcentaje de los timocitos en los ratones transgénicos expresaron el receptor de célula T codificado por el transgén. Se encontró que los timocitos que expresaban TCR transgénico maduraron hacia células T $CD8^+$ sólo en los ratones transgénicos con el haplotipo de MHC clase I H-2^k (es decir, el haplotipo para el cual se restringió el receptor transgénico). En ratones transgénicos con un haplotipo de MHC diferente (H-2^d) había timocitos doblemente positivos inmaduros que expresaban el transgén, pero estos timocitos no maduraron a células T $CD8^+$. Estos resultados confirmaron que para la selección positiva se requiere la interacción entre receptores de célula T en timocitos inmaduros y moléculas MHC propias. En ausencia de estas últimas, como en los ratones transgénicos H-2^d, no ocurren selección positiva ni la maduración subsecuente.

La prueba de la eliminación de timocitos reactivos a antígeno propio más moléculas MHC proviene de varios sistemas experimentales. En uno de ellos se analizó la maduración de timocitos en ratones transgénicos que llevaban un transgén de TCR αβ específico para la molécula MHC clase 1 D^b más antígeno H-Y, una proteína pequeña que se codifica en el cromosoma Y y por tanto sólo es una molécula propia en ratones machos. En este experimento, el haplotipo MHC de los ratones transgénicos era H-2^b, el mismo que el de la restricción en MHC del receptor codificado por el transgén. Por consiguiente, cualquier diferencia en la selección de timocitos en transgénicos machos y hembras se relacionaría con la presencia o ausencia de antígeno H-Y.

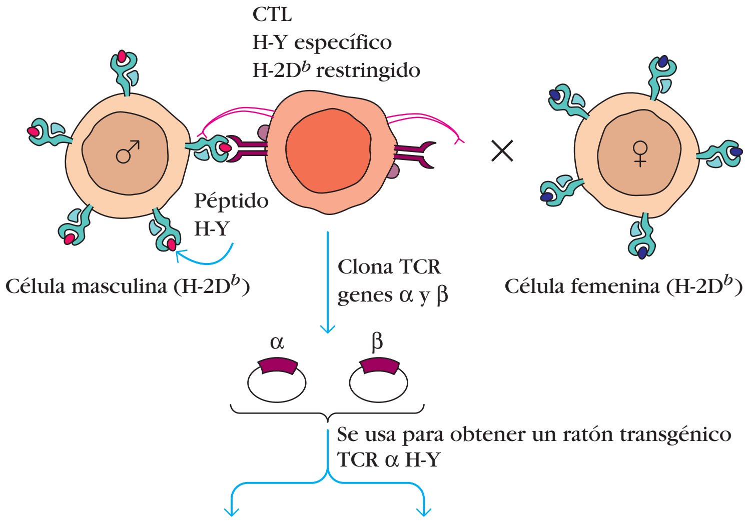
El análisis de timocitos en los ratones transgénicos reveló que las hembras contenían timocitos que expresaban el transgén de TCR específico de H-Y, no así los ratones machos (fig. 10-8). En otras palabras, los timocitos reactivos a H-Y eran autorreactivos en los ratones machos y se eliminaron. Sin embargo, en células de ratones transgénicos hembras, que no expresaron el antígeno H-Y, estas células no eran autorreactivas y por consiguiente no se eliminaron. Cuando los timocitos de estos ratones transgénicos machos se cultivaron in vitro con células presentadoras de antígeno que expresaban el antígeno H-Y, se observó que los timocitos sufrían apoptosis, lo que constituye un ejemplo notable de selección negativa.

Algunos temas centrales de la selección tímica aún no se resuelven

Aunque se ha aprendido mucho sobre los procesos de desarrollo que generan células T $CD4^+$ y $CD8^+$ maduras, persisten algunos misterios. Entre ellos sobresale una paradoja: si la selección positiva sólo permite que sobrevivan timocitos reactivos con moléculas MHC propias, y la selección negativa elimina los timocitos reactivos a MHC propio, entonces no sería posible que maduraran células T. Dado que de hecho esta maduración es el resultado final del desarrollo de las células T, es claro que deben operar otros factores para evitar que estos dos procesos dependientes del MHC eliminen la totalidad del repertorio de células T restringidas en cuanto al complejo mayor de histocompatibilidad.

En pruebas experimentales de cultivos de timo fetal (FTOC, del inglés *fetal thymic organ culture*) han resultado útiles para resolver este mecanismo. En este sistema se extirpan lóbulos tímicos de ratones de 16 días de edad de gestación y se cultivan. En este momento, los lóbulos consisten de manera predominante en timocitos $CD4^- 8^-$. Puesto que estos timocitos doblemente negativos inmaduros no dejan de desarrollarse en el cultivo del órgano, es posible estudiar la selección tímica bajo condiciones que permitan una variedad de experimentos informativos. Se han empleado en particular ratones con desactivación del gen para el transportador de péptidos TAP-1. En ausencia de TAP-1, en las células tímicas sólo se expresan concentraciones bajas de MHC clase I y se bloquea el desarrollo de timocitos $CD8^+$. Sin embargo, cuando se añaden péptidos exógenos a estos cultivos orgánicos, entonces en la superficie de las células tímicas aparecen moléculas MHC clase I portadoras de péptido y se restablece el desarrollo de células T $CD8^+$. Resulta significativo el hecho de que cuando se agrega una mezcla de diversos péptidos es mayor el grado de restablecimiento de células T $CD8^+$ que cuando se adiciona un péptido aislado. Esto indica que el péptido no sólo apoya la expresión estable de MHC, sino que además es reconocido en sí mismo en el proceso de selección.

Existen dos hipótesis que intentan explicar la paradoja de la selección positiva y negativa dependiente de MHC. En la *hipótesis de la avidez* se supone que diferencias de la fuerza de las señales que reciben los timocitos sometidos a selección positiva y negativa determinan el resultado final, y que la fuerza de la señal


CTL
H-Y específico
H-2D^b restringido
♂
×
♀
Péptido H-Y
Célula masculina (H-2D^b)
Clona TCR genes α y β
Célula femenina (H-2D^b)
α
β
Se usa para obtener un ratón transgénico TCR α H-Y

	Macho H-2D^b	Hembra H-2D^b
Expresión H-Y	+	–
Timocitos		
CD4$^-$8$^-$	++	+
CD4$^+$8$^+$	+	++
CD4$^+$	+	+
CD8$^+$	–	++

FIGURA 10-8 Demostración experimental que comprueba que la selección negativa de timocitos requiere antígeno y MHC propios. En este experimento se crearon transgénicos macho y hembra H-2^b que llevaban transgenes de TCR específicos para antígeno H-Y además de la molécula D^b. Este antígeno sólo se expresa en machos. El análisis FACS de timocitos de los transgénicos mostró que no existían en los ratones machos células T CD8$^+$ maduras que expresaran el transgén, pero sí en ratones hembra, lo cual sugería que los timocitos reactivos con antígeno propio (en este caso antígeno H-Y en ratones machos) se eliminan durante la selección tímica. *[Adaptada de H. von Boehmer y P. Kisielow, 1990,* Science ***248:****1370.]*

depende de la afinidad de la interacción TCR-MHC-péptido. La *hipótesis de señalización diferencial* sostiene que los resultados finales de la selección son determinados por diferentes señales y no por distintas fuerzas de la misma señal.

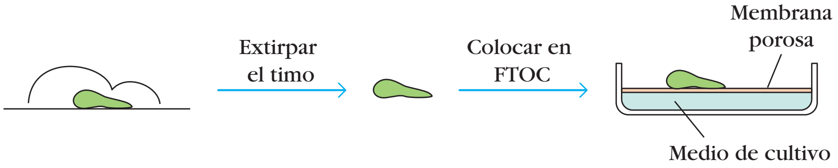
La hipótesis de la avidez se sometió a prueba para un TCR αβ que reconoció un complejo de péptido de LCMV-MHC en ratones transgénicos con desactivación del gen que codifica TAP-1. Estos ratones se usaron para realizar cultivos de timo fetal (fig. 10-9). La avidez de la interacción de TCR-MHC se hizo variar con el empleo de diferentes concentraciones de péptido. A valores bajos de este último, pocas moléculas MHC unieron péptido y la avidez de la interacción TCR-MHC fue baja. A medida que aumentaron las concentraciones del péptido, se incrementó el número de complejos péptido-MHC y asimismo la avidez de la interacción. En este experimento aparecieron muy pocas células CD8$^+$ cuando no se añadió péptido, pero incluso concentraciones bajas de éste dieron por resultado la aparición de cifras significativas de células T CD8$^+$ portadoras del TCR transgénico. El incremento de las concentraciones peptídicas a un intervalo óptimo suministró la cifra más alta de células T CD8$^+$. Sin embargo, a concentraciones más altas del péptido declinó de manera precipitada el número de células T CD8$^+$ producidas. Los resultados de estos experimentos demuestran que es posible lograr selección positiva y negativa con señales generadas por la misma combinación de péptido-MHC. Cuando no hay señal (péptido) no se apoya la selección positiva. Una señal débil (concentración baja de péptido) induce selección positiva. No obstante, una señal muy potente (valores altos de péptido) precipita una selección negativa.

El modelo de señalización diferencial constituye un medio alternativo para determinar si una célula T experimentará selección positiva o negativa. Este modelo es cualitativo en lugar de cuantitativo, y resalta la naturaleza de la señal emitida por el TCR en vez de su fuerza. En el centro de este modelo se encuentra la observación de que algunos complejos MHC-péptido sólo pueden suministrar una señal débil o parcialmente activadora, mientras que otros emiten una señal completa. En este modelo, la selección positiva se realiza cuando los TCR de los timocitos en desarrollo encuentran complejos de MHC y péptido que llevan señales débiles o parciales a sus receptores, y la selección negativa resulta cuando la señal es completa. En este momento no es posible decidir entre el modelo de avidez o el de señalización diferencial; ambos tienen apoyo experimental. Tal vez en algunos casos opera uno de estos mecanismos con exclusión total del otro. También es posible que ningún mecanismo aislado explique todos los resultados finales en las interacciones celulares efectuadas en el timo, y más de un mecanismo tenga una función relevante. Se requiere más investigación para comprender por completo estos mecanismos.

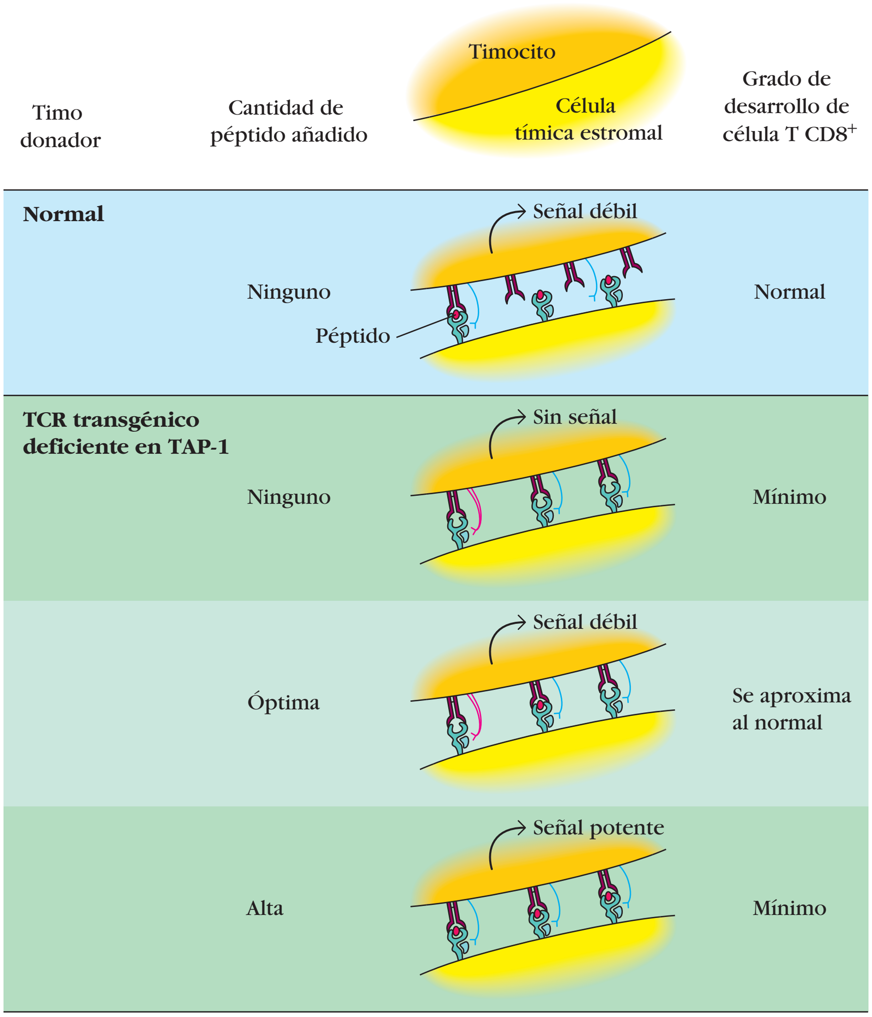
La expresión diferencial del correceptor CD8 también puede afectar la selección tímica. En un experimento en el que se aumentó de modo artificial la expresión de CD8 al doble de su valor normal, la concentración de células CD8$^+$ maduras en el timo fue un treceavo de la concentración en ratones testigo con

FIGURA 10-9 Función de los péptidos en la selección. Los timos extirpados antes de que sus poblaciones de timocitos sufran selección positiva y negativa permiten estudiar el desarrollo y la selección de células T unipositivas (CD4^{+}CD8^{-} y CD4^{-}CD8^{+}). a) Esbozo del procedimiento experimental para el cultivo orgánico de timo fetal in vitro. b) El desarrollo y la selección de células T restringidas a clase I CD8^{+}CD4^{-} depende de interacciones TCR-péptido-MHC I. Los ratones con inactivación de TAP-1 no son capaces de formar complejos de péptido y MHC, a menos que se añada péptido. Los ratones utilizados en este estudio eran transgénicos para las cadenas α y β del TCR que reconoce el péptido añadido unido a moléculas MHC I de los ratones transgénicos con desactivación de TAP-1/TCR. La variación de la cantidad de péptido agregado reveló que las concentraciones bajas de éste, que producen una baja avidez de unión, tuvieron como resultado la selección positiva y valores casi normales de células CD4^{-}CD8^{+}. Las concentraciones altas del péptido, que produjeron alta avidez de unión al TCR, originaron selección negativa, y aparecieron pocas células T CD4^{-}CD8^{+}. *[Adaptada de P. G. Ashton Rickardt et al., 1994,* Cell *25:651.]*

a) Procedimiento experimental: cultivo de timo fetal (FTOC)


Extirpar el timo
Colocar en FTOC
Membrana porosa
Medio de cultivo

b) Desarrollo de células CD8^{+}CD4^{-} restringidas a MHC I


Timo donador
Cantidad de péptido añadido
Timocito
Célula tímica estromal
Grado de desarrollo de célula T CD8^{+}
Normal
Señal débil
Ninguno
Péptido
Normal
TCR transgénico deficiente en TAP-1
Sin señal
Ninguno
Mínimo
Señal débil
Óptima
Se aproxima al normal
Señal potente
Alta
Mínimo

concentraciones normales de CD8 en su superficie. Dado que la interacción de las células T con moléculas MHC clase I se fortalece por la participación de CD8, tal vez el incremento de la expresión de CD8 aumentaría la avidez de los timocitos por moléculas clase I, haciendo más probable su selección negativa.

Otra pregunta abierta importante en la selección tímica es la forma en que los timocitos doblemente positivos son dirigidos para su conversión en células T CD4^{+}8^{-} o CD4^{-}8^{+}. La selección de timocitos CD4^{+}8^{+} da lugar a células T CD8^{+} restringidas a MHC clase I y células T CD4^{+} restringidas a clase II. Se han propuesto dos modelos para explicar la transformación de un precursor doblemente positivo en uno de dos linajes unipositivos diferentes (fig. 10-10). El *modelo instructivo* postula que las interacciones múltiples entre correceptores TCR, CD8^{+} o CD4^{+} y moléculas MHC clase I o II instruyen a las células para que se diferencien en células unipositivas CD8^{+} o CD4^{+}, respectivamente. Este modelo predeciría que un TCR específico de MHC clase I, junto con el correceptor CD8, emitiría una señal diferente de la inducida por un TCR específico de MHC clase II junto con el correceptor CD4. El *modelo estocástico* sugiere que la expresión de CD4 o CD8 se desactiva de manera aleatoria sin relación con la especificidad del TCR. Sólo maduran los timocitos cuyos TCR y correceptor restante reconocen la misma clase de molécula MHC. En la actualidad no es posible elegir un modelo en detrimento del otro.

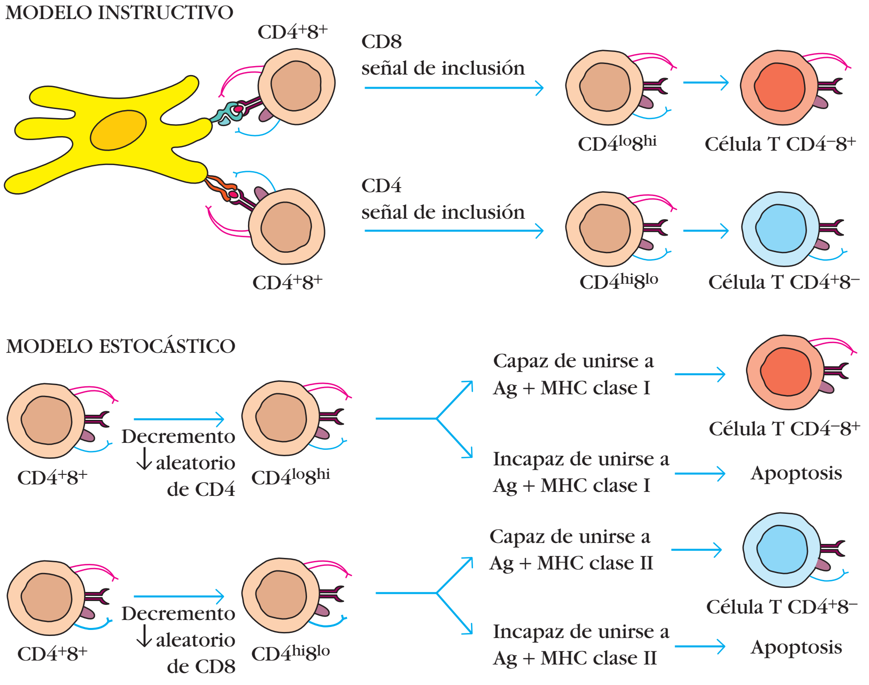


FIGURA 10-10 Modelos propuestos para la acción de los correceptores CD4 y CD8 en la selección tímica de timocitos doblemente positivos que conduce a células T unipositivas. Según el modelo instructivo, la interacción de un correceptor con moléculas MHC en células estromales provoca decremento del otro correceptor. Según el modelo estocástico, la disminución de CD4 o CD8 es un proceso aleatorio.

Activación de la célula T

El fenómeno central en la generación de reacciones inmunitarias humorales y mediadas por células es la activación y expansión clonal de células T. La activación de las células T es iniciada por la interacción del complejo TCR-CD3 con un péptido antigénico procesado unido a una molécula MHC clase I (células CD8$^+$) o clase II (células CD4$^+$) en la superficie de una célula presentadora de antígeno. Esta interacción, y las señales activadoras resultantes, también incluye varias moléculas de membrana accesorias en la célula T y la célula presentadora de antígeno. La interacción de una célula T con antígeno precipita una cascada de fenómenos bioquímicos que inducen a las células T restantes a ingresar al ciclo celular, proliferar y diferenciarse en células de memoria o efectoras. Muchos de los productos génicos que aparecen durante la interacción con antígeno pueden agruparse en una de tres categorías, según el momento en que pueden identificarse después del reconocimiento de antígeno (cuadro 10-2):

- Los *genes inmediatos*, que se expresan en el transcurso de media hora tras el reconocimiento de antígeno, codifican varios factores de transcripción, entre ellos c-Fos, c-Myc, c-Jun, NFAT y NF-κB.
- Los *genes tempranos*, que se expresan en el transcurso de una a dos horas luego del reconocimiento de antígeno, codifican IL-2, IL-2R (receptor de IL-2), IL-3, IL-6, IFN-γ y muchas otras proteínas.
- Los *genes tardíos,* que se expresan más de dos días después del reconocimiento de antígeno, codifican varias moléculas de adhesión.

Estos profundos cambios resultan de vías de transducción de señales que se activan por el encuentro entre el TCR y complejos MHC-péptido. Es útil una revisión general de algunas de las estrategias básicas de la señalización celular como base para apreciar las vías de señalización específicas que utilizan las células T.

La unión del TCR inicia múltiples vías de señalización

Como ya se mencionó, la detección e interpretación de señales del ambiente son características indispensables de todas las células, incluidas las del sistema inmunitario. Algunos temas comunes son típicos de estos procesos integradores cruciales. Dichos temas se enumeran aquí a manera de repaso; en el capítulo 1, en especial en la figura 1-6, se presenta una explicación más detallada.

- *La transducción de señales se inicia con la interacción entre una señal y su receptor.*
- *Muchas vías de transducción de señales implican el ensamblaje inducido por señal de algunos componentes de la vía; en tales ensamblajes se utilizan proteínas adaptadoras.*
- *Con frecuencia, la recepción de señales hace que dentro de la célula se genere un "segundo mensajero",* una molécula o ion capaces de difundirse a otros sitios de la célula e inducir cambios metabólicos.
- *Se activan o inhiben cinasas y fosfatasas de proteína.*
- *Las señales experimentan amplificación por cascadas enzimáticas.*

Los procesos que relacionan el reconocimiento de antígenos por el receptor de célula T con la activación génica reflejan muchos de los temas anteriores. El elemento clave en el inicio de la activación de la célula T es el reconocimiento por el TCR de complejos de MHC y péptido en células presentadoras de antígeno. Este suceso cataliza una serie de procesos intracelulares que comienzan en la superficie interna de la membrana plasmática y culminan en el núcleo, de lo que resulta la transcripción de genes que impulsan el ciclo celular, la diferenciación de la célula T o ambas cosas.

Como se describe en el capítulo 9, el TCR consiste en una unidad de unión de ligando mayormente extracelular, una unidad

CUADRO 10-2 Evolución temporal de la expresión de genes por células T_H después de la interacción con antígeno

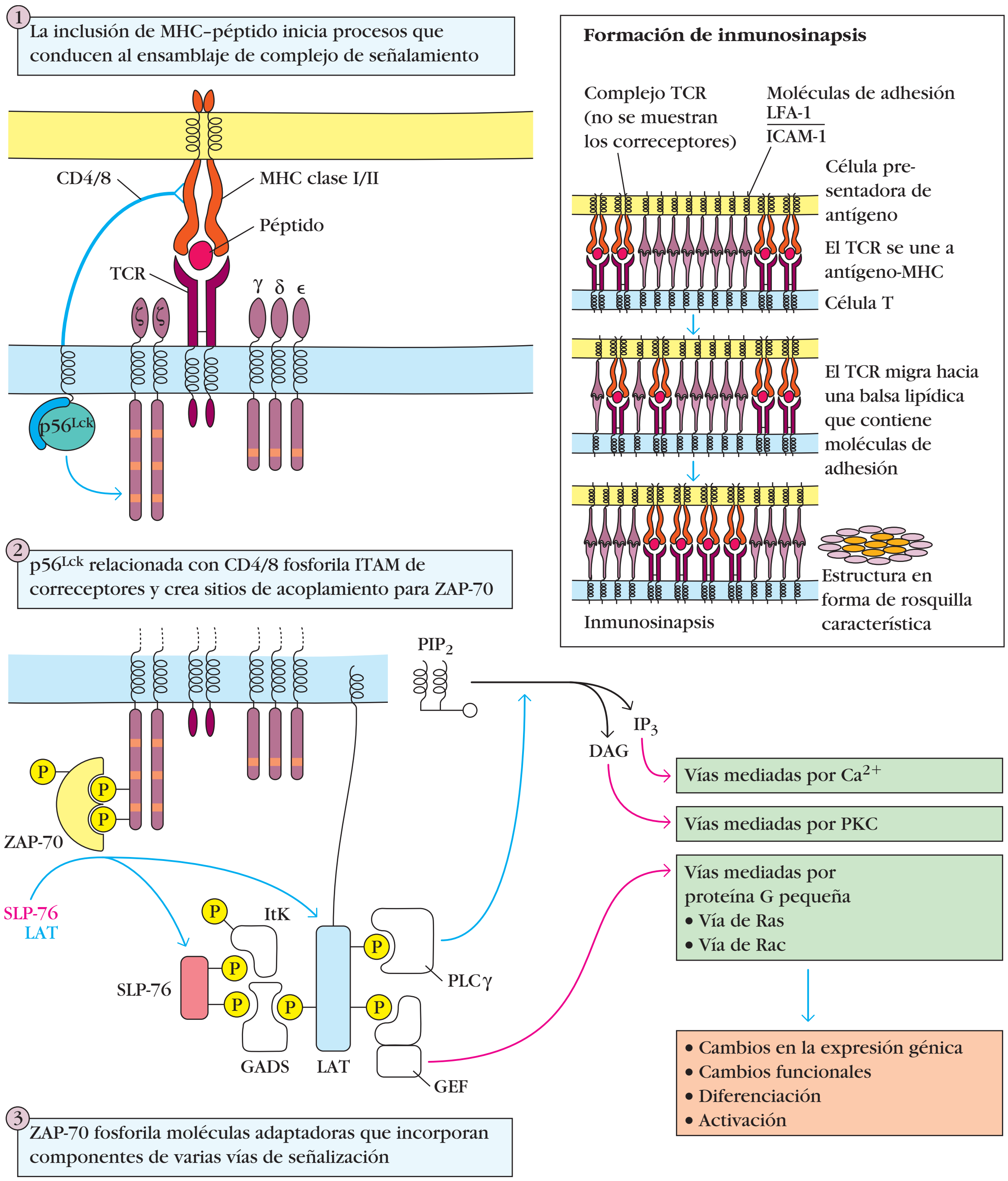
Producto génico	Función	Tiempo en que se inicia la expresión de mRNA	Localización	Relación de células activadas y no activadas
INMEDIATO				
c-Fos	Protooncogén; proteína nuclear de unión	15 min	Núcleo	>100
c-Jun	Oncogén celular; factor de transcripción	15-20 min	Núcleo	?
NFAT	Factor de transcripción	20 min	Núcleo	50
c-Myc	Oncogén celular	30 min	Núcleo	20
NF-κB	Factor de transcripción	30 min	Núcleo	>10
TEMPRANO				
IFN-γ	Citocina	30 min	Secretada	>100
IL-2	Citocina	45 min	Secretada	>1 000
Receptor de insulina	Receptor hormonal	1 h	Membrana celular	3
IL-3	Citocina	1-2 h	Secretada	>100
TGF-β	Citocina	<2 h	Secretada	>10
Receptor de IL-2 (p55)	Receptor de citocina	2 h	Membrana celular	>50
TNF-β	Citocina	1-3 h	Secretada	>100
Ciclina	Proteína de ciclo celular	4-6 h	Citoplasma	>10
IL-4	Citocina	<6 h	Secretada	>100
IL-5	Citocina	<6 h	Secretada	>100
IL-6	Citocina	<6 h	Secretada	>100
c-Myb	Protooncogén	16 h	Núcleo	100
GM-CSF	Citocina	20 h	Secretada	?
TARDÍO				
HLA-DR	Molécula MHC clase II	3-5 días	Membrana celular	10
VLA-4	Molécula de adhesión	4 días	Membrana celular	>100
VLA-1, VLA-2, VLA-3, VLA-5	Moléculas de adhesión	7-14 días	Membrana celular	>100, ?, ?, ?

FUENTE: Adaptado de G. Crabtree, *Science* **243**:357.

de señalización de predominio intracelular, el complejo CD3 y el homodímero de cadenas ζ. Experimentos en ratones con desactivación génica han demostrado que todos estos componentes son esenciales para la transducción de señales. Es posible reconocer dos fases en la inducción mediada por antígeno de respuestas de la célula T: inicio y generación de señales:

- *Inicio.* Es crítico que la señalización de células T sea regulada y que la activación ocurra como resultado de la unión a antígeno específico. En una célula T en reposo la $p56^{Lck}$, una tirosincinasa de proteína esencial para el inicio de la señalización por TCR, es secuestrada del complejo de TCR. Dicha enzima se halla en *balsas lipídicas*, microdominios de membrana ricos en esfingomielina, glucoesfingolípidos y colesterol. El complejo TCR no unido es excluido de estos dominios. Cuando el TCR se une a MHC-péptido, el complejo TCR se fija a balsas lipídicas, a lo que sigue el agrupamiento con correceptores CD4 y CD8 que se unen a regiones invariantes de la molécula MHC (fig. 10-11). La tirosincinasa $p56^{Lck}$, que se une a las colas citoplásmicas de los correceptores cuando la célula se encuentra en estado de reposo, es llevada entonces cerca de las colas citoplásmicas del complejo de TCR, donde fosforila los motivos de activación de inmunorreceptor basados en tirosina (ITAM; fig. 9-9) de los polipéptidos del componente CD3. Las tirosinas fosforiladas en los ITAM de la cadena ζ proporcionan sitios de acoplamiento (unión) a los que se une otra tirosincinasa de proteína denominada ZAP-70 (paso 2 en la fig. 10-11) y se torna activa. Entonces, la ZAP-70 cataliza

FIGURA 10-11 PARA VISUALIZACIÓN DE CONCEPTOS: Señalización mediada por TCR


1
La inclusión de MHC-péptido inicia procesos que conducen al ensamblaje de complejo de señalamiento
CD4/8
MHC clase I/II
Péptido
TCR
ζ ζ
γ δ ϵ
p56Lck
2
p56Lck relacionada con CD4/8 fosforila ITAM de correceptores y crea sitios de acoplamiento para ZAP-70
Formación de inmunosinapsis
Complejo TCR (no se muestran los correceptores)
Moléculas de adhesión
LFA-1
ICAM-1
Célula presentadora de antígeno
El TCR se une a antígeno-MHC
Célula T
El TCR migra hacia una balsa lipídica que contiene moléculas de adhesión
Estructura en forma de rosquilla característica
Inmunosinapsis
PIP2
IP3
DAG
P
ZAP-70
SLP-76
LAT
ItK
SLP-76
GADS
LAT
PLCγ
GEF
Vías mediadas por Ca2+
Vías mediadas por PKC
Vías mediadas por proteína G pequeña
• Vía de Ras
• Vía de Rac
• Cambios en la expresión génica
• Cambios funcionales
• Diferenciación
• Activación
3
ZAP-70 fosforila moléculas adaptadoras que incorporan componentes de varias vías de señalización

La inclusión de TCR por complejos de péptido y MHC inicia el ensamblaje de un complejo de señalamiento. Un paso inicial es la fosforilación de ITAM mediada por p56^{Lck} en las cadenas ζ del complejo TCR, que crea sitios a los cuales la cinasa de proteína ZAP-70 se fija y se activa por fosforilación. Una serie de fosforilaciones catalizadas por proteínas ZAP-70 permite la generación de una diversidad de señales. (Abreviaturas: DAG, diacilglicerol; GADS, adaptador parecido a Grb-2 corriente abajo de Shc; GEF, factor de intercambio de nucleótido de guanina; ITAM, elemento de activación de inmunorreceptor basado en tirosina; ItK, cinasa de célula T inducible; IP_3, 1,4,5-trifosfato de inositol; LAT, enlazador de células T activadas; PIP_2, bisfosfato de fosfoinositol; PLCγ, fosfolipasa C γ; SLP-76, proteína específica de leucocitos que contiene SH_2 de 76 kDa; ZAP-70, proteína relacionada con ζ de 70 kDa.)

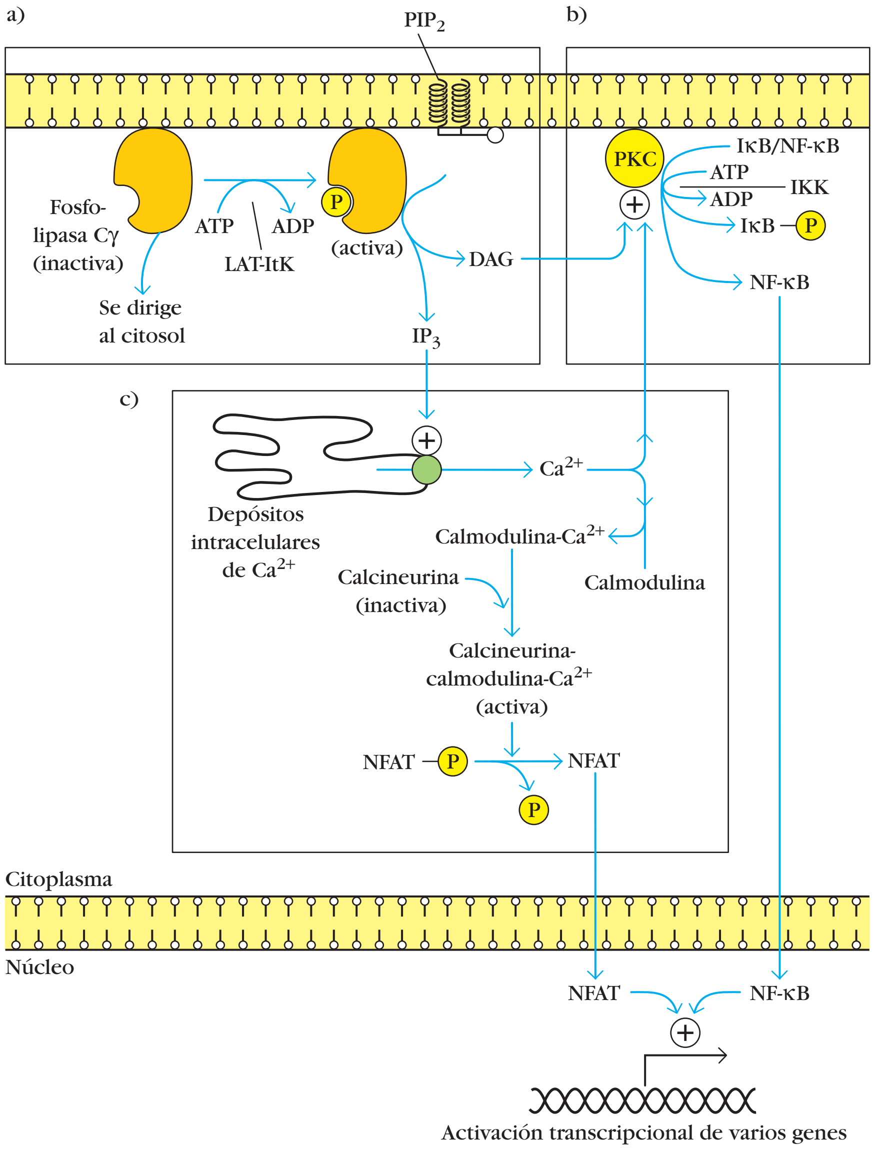


FIGURA 10-12 Vías de transducción de señales relacionadas con activación de células T. a) Se activa la fosfolipasa Cγ (PLCγ) por fosforilación. La PLCγ activa hidroliza un componente fosfolípido de la membrana plasmática para generar segundos mensajeros, DAG y IP$_3$. b) La cinasa de proteína C (PKC) se activa por acción de DAG y Ca^{2+}. Entre los numerosos efectos de la PKC se encuentra la activación de IKK, con fosforilación de IkB, una proteína citoplásmica que se une al factor de transcripción NF-κB e impide que penetre en el núcleo. La fosforilación de IkB libera NF-κB, que entonces se transpone hacia el núcleo. c) Activación de calcineurina dependiente de Ca^{2+}. La calcineurina es una fosfatasa dependiente de Ca^{2+}/calmodulina. El IP$_3$ media la liberación de Ca^{2+} del retículo endoplásmico. El Ca^{2+} une la proteína calmodulina, que luego se relaciona con la fosfatasa de calcineurina dependiente de Ca^{2+}/calmodulina y la activa. La calcineurina activa elimina un grupo fosfato de NFAT, que permite que este factor de transcripción se transponga hacia el interior del núcleo.

la fosforilación de varias moléculas adaptadoras unidas a membrana, incluidas Vav-1, Shc, LAT y SLP-76 (paso 3), que actúan como andamiaje para el reclutamiento de varias vías de transducción de señales intracelulares. Una de estas vías incluye una forma de la enzima fosfolipasa C (PLCγ), que se fija a una molécula adaptadora, se activa por fosforilación y escinde un fosfolípido de membrana para generar segundos mensajeros. Esta vía también conduce a la activación de un factor de transcripción, el factor nuclear NF-κB. Otra vía activa una proteína G.

- *Generación de múltiples señales intracelulares.* Como consecuencia de los pasos que suceden en la fase de inicio se activan muchas vías de señalamiento, como se muestra a la derecha en la figura 10-11, y lo que se describe en seguida.

Una característica de la fase de inicio de la señalización por TCR es la formación de una estructura supramolecular conocida como *inmunosinapsis*, o IS. La IS, así llamada por analogía con las sinapsis entre neuronas, es una estructura dinámica y altamente organizada que se forma en los sitios en que las células T entran en contacto con células presentadoras de antígeno. Se piensa que el ingreso del TCR en las balsas lipídicas es una característica fundamental de la formación de IS. La región central de la IS está altamente enriquecida con complejos TCR/CD3 así como otras proteínas de señalización intracelular unidas al complejo TCR, mientras que el anillo externo en forma de rosquilla que rodea a esta región central contiene moléculas de adhesión como LFA-1 (fig. 10-11, recuadro). Aunque no se requiere la formación de una IS para la fase de inicio de la señalización del TCR, se sabe que la activación sostenida de células T es más eficaz si se forma una IS.

Se considerarán varias de las vías de señalización reclutadas por la activación de células T, pero el proceso global es muy complejo, y muchos de los detalles no se presentarán aquí. Los artículos de revisión que se sugieren al final de este capítulo cubren de manera extensa esta área de investigación muy activa.

Fosfolipasa Cγ (PLCγ)

La PLCγ se activa por fosforilación y tiene acceso a su sustrato por unión a la proteína adaptadora relacionada con membrana LAT junto con una cinasa inducible de célula T (ItK) (fig. 10-12a). La PLCγ hidroliza bisfosfato de fosfoinositol, PIP$_2$, un

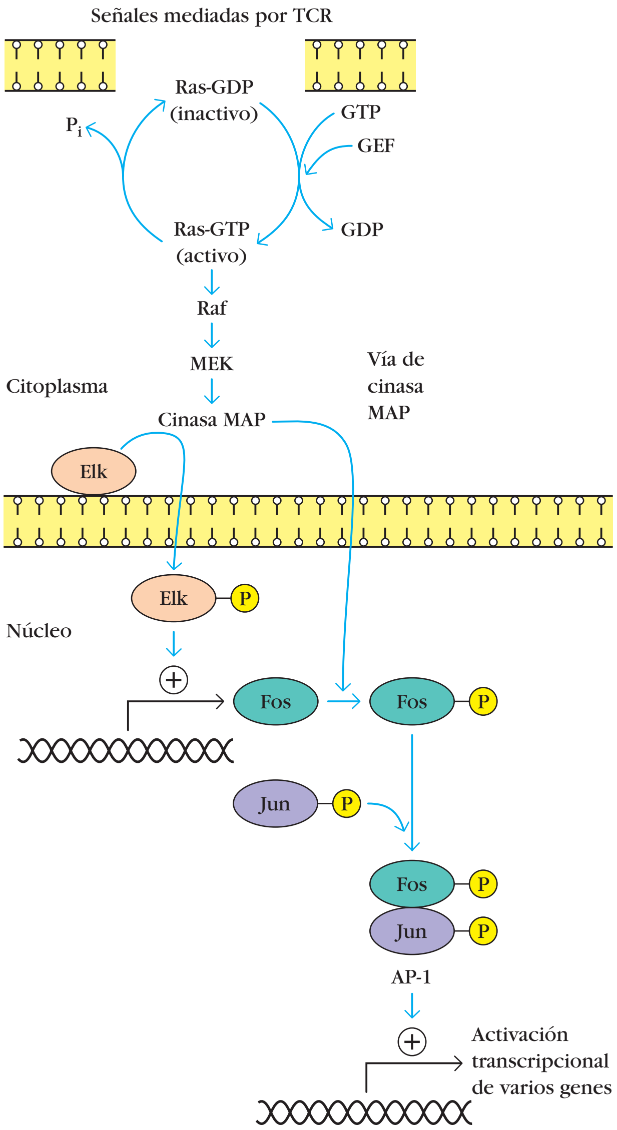


FIGURA 10-13 **Activación de la proteína G pequeña Ras.** Las señales del receptor de célula T tienen como resultado la activación de Ras a través de la acción de factores de intercambio de nucleótido de guanina específicos (GEF) que catalizan el intercambio de GDP por GTP. La Ras activa precipita una cascada de reacciones que ocasionan un incremento en la producción del factor de transcripción Fos. Después de su fosforilación, se dimerizan Fos y Jun para producir el factor de transcripción AP-1. Obsérvese que todas estas vías tienen efectos importantes aparte de los ejemplos específicos que se muestran en la figura.

componente fosfolipídico de la membrana, para generar 1,4,5-trifosfato de inositol (IP_3) y diacilglicerol (DAG). El IP_3 causa una liberación rápida de Ca^{2+} del retículo endoplásmico y abre canales de Ca^{2+} en la membrana celular (fig. 10-12c). El DAG activa la cinasa de proteína C, una cinasa multifuncional que fosforila muchos blancos diferentes (fig. 10-12b).

Ca^{2+}

El ion calcio participa en una gama excepcionalmente amplia de procesos, que incluyen visión, contracción muscular y muchos otros. Es un elemento esencial en diversas respuestas de las células T; su liberación desde el retículo endoplásmico a fin de cuentas lleva a la fosforilación de un importante factor de transcripción, NFAT, lo que culmina en el transporte de éste del citoplasma al núcleo (fig. 10-12c). En el núcleo, el NFAT apoya la transcripción de genes necesarios para la expresión de las citocinas promotoras del crecimiento de las células T, IL-2, IL-4 y otras.

Cinasa de proteína C (PKC)

La producción de DAG por PLCγ da por resultado la activación de cinasa de proteína C (PKC). Esto transpone la PKC a balsas lipídicas, donde la enzima inicia una cascada de sucesos que lleva a la activación del factor de transcripción NF-κB (fig. 10-12b).

Factor nuclear κB (NF-κB)

El factor nuclear κB es un importante factor de transcripción inducido por una variedad de señales en muchos tipos celulares, incluidas células del sistema inmunitario. Sin embargo, la vía que conduce a la activación del NF-κB en las células T es nueva en términos evolutivos. La activación de PKC por PLCγ lleva al ensamblaje de un complejo unido a membrana de proteínas que incluye CARMA1, BCL-10 y MALT1. Este complejo, una vez ensamblado, impulsa la activación de una enzima multiproteínica conocida como IKK (cinasa de inhibidor de κB). A su vez, la IKK fosforila el inhibidor de κB (IκB) (fig. 10-12b). El IκB normalmente se encuentra unido a NF-κB, reteniéndolo en el citosol, pero al ser fosforilado por la IKK el IκB libera al NFκB, el cual emigra al núcleo, donde activa la transcripción génica. IL-2 es una citocina importante para estimular NF-κB.

Vía Ras/cinasa MAP

Ras es un componente central de la vía de transducción de señales que se encuentra en muchos tipos de células y se conservó a lo largo de la evolución a través de una gama de eucariotes que va de levaduras al ser humano. Ras es una proteína G pequeña cuya activación por GTP inicia una cascada de cinasas de proteína conocida como la vía de cinasa de proteína activada por mitógeno (cinasa MAP). La fosforilación del producto final de esta cascada, la cinasa MAP (también llamada ERK), permite que active a Elk, un factor de transcripción necesario para la expresión de Fos (fig. 10-13). La fosforilación de Fos por cinasa MAP permite que se relacione con Jun para formar AP-1, que es un factor de transcripción esencial para la activación de las células T. AP-1 también regula la transcripción de IL-2.

¿Cuántos complejos de TCR deben ensamblarse para inducir la activación de la célula T?

La pregunta de cuántos ligandos debe reconocer una célula T antes de que ocurra la activación ha sido abordada por muchos grupos de investigadores. Hasta los avances recientes en visualización de células individuales, estos cálculos se realizaron por medios indirectos e imprecisos. Mark Davis y colaboradores, de la Stanford Medical School, abordaron el problema con una técnica de visualización microscópica en extremo sensible en dos partes. Trataron brevemente células presentadoras de antígeno con un péptido que contenía una molécula de biotina terminal. De este modo, el número de péptidos unidos a MHC podía determinarse agregando un conjugado de estreptavidina y ficoeritrina, que se une a la biotina del péptido biotinilado y puede inducirse a emitir luz para visualización ulterior. Las células específicas para el complejo de péptido biotinilado y MHC se cargaron con fura-2, un tinte usado para visualizar calcio intracelular libre, el cual serviría como indicador de la activación de células T. Éstas se agregaron entonces a las células presentadoras de antígeno. Por medio de esta técnica en extremo sensible, los investigadores pudieron determinar 1) si una célula T era activada y 2) cuántas moléculas de péptido estaban presentes en el punto de contacto entre la célula T y la célula presentadora de antígeno; en otras palabras, cuántos complejos TCR-MHC-péptido biotinilado se habían formado. Los investigadores determinaron que incluso un solo péptido causa la liberación de Ca^{2+}, y que la liberación máxima de Ca^{2+} se lograba en células T $CD4^{+}$ cuando estaban unidos apenas 10 complejos TCR. Se obtuvieron resultados similares con células T $CD8^{+}$.

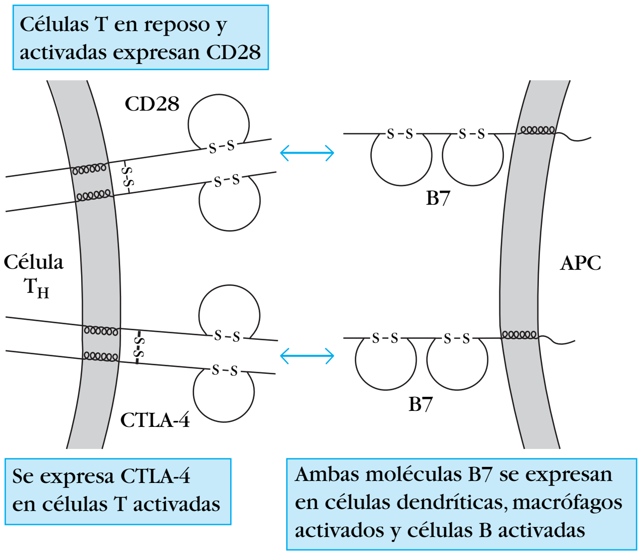

Células T en reposo y activadas expresan CD28
CD28
S-S
S-S
S-S
S-S
S-S
B7
Célula T_H
APC
S-S
S-S
S-S
S-S
S-S
CTLA-4
B7
Se expresa CTLA-4 en células T activadas
Ambas moléculas B7 se expresan en células dendríticas, macrófagos activados y células B activadas

FIGURA 10-14 La activación de la célula T_H requiere una señal coestimuladora proporcionada por células presentadoras de antígeno (APC). La interacción de miembros de la familia B7 en APC con CD28 lleva la señal coestimuladora. La inclusión de la molécula CTLA-4 relacionada de modo estrecho con B7 produce una señal inhibidora. Todas estas moléculas contienen cuando menos un dominio parecido a inmunoglobulina y, por consiguiente, pertenecen a la superfamilia de las inmunoglobulinas. *[Adaptada de P. S. Linsley y J. A. Ledbetter, 1993,* Annual Review of Immunology ***11:****191.]*

Para la activación completa de las células T se requieren señales coestimuladoras

La activación de las células T requiere la interacción dinámica de múltiples moléculas de membrana descritas con anterioridad, pero esta interacción no es suficiente, por sí misma, para activar por completo células T vírgenes. Las células T vírgenes requieren más de una señal para su activación y proliferación subsecuente en células efectoras:

- *Señal 1*, la inicial, que se genera por la interacción de un péptido antigénico con el complejo TCR-CD3.
- Una señal coestimuladora subsecuente inespecífica de antígeno, la *señal 2*, que es aportada sobre todo por las interacciones entre CD28 en las células T y miembros de la familia B7 en la células presentadoras de antígeno (fig. 10-14).

Existen dos formas de moléculas estimuladoras relacionadas de B7: B7-1 (CD80) y B7-2 (CD86). Estas moléculas son miembros de la superfamilia de las inmunoglobulinas y tienen una organización similar de dominios extracelulares, pero dominios citosólicos muy diferentes. Las dos moléculas B7 se expresan de forma constitutiva en células dendríticas y se inducen en macrófagos activados y células B activadas. Los ligandos para B7 son CD28 y CTLA-4 (que también se conoce como CD152), y ambos se expresan en la membrana de la célula T como homodímeros enlazados por disulfuro; al igual que B7, son miembros de la superfamilia de las inmunoglobulinas (fig. 10-14). Aunque CD28 y CTLA-4 son glucoproteínas similares en sentido estructural, actúan de manera antagónica. La señalización a través de CD28 lleva una señal coestimuladora positiva a la célula T; la señalización por CTLA-4 es inhibidora y disminuye la activación de las células T. CD28 se expresa en células T en reposo y activadas, pero CTLA-4 virtualmente no se detecta en células en reposo. De manera característica, la inclusión del TCR origina la inducción de la expresión de CTLA-4 y este último se identifica con facilidad en el transcurso de 24 horas tras la estimulación, con expresión máxima dos o tres días después de ella. Aunque las concentraciones máximas de CTLA-4 en la superficie son más bajas que las de CD28, aún compite de manera favorable por moléculas B7 porque tiene una afinidad más alta por estas moléculas que CD28. Como hecho interesante, el valor de expresión de CTLA-4 aumenta por señales coestimuladoras generadas por CD28. Esto proporciona un freno regulador a través de CTLA-4 de manera proporcional con la aceleración recibida de CD28. Parte de la importancia de CTLA-4 en la regulación de la activación y proliferación de linfocitos se demuestra por experimentos en ratones con el CTLA-4 alterado. Las células T en estos ratones proliferan de manera masiva, lo que conduce a linfadenopatía (ganglios linfáticos muy crecidos), esplenomegalia (bazo crecido) y muerte tres a cuatro semanas después del nacimiento. Es claro que en la homeostasis de los linfocitos es importante la producción de señales inhibidoras por la inclusión de CTLA-4.

Cuando no existe una señal coestimuladora se presenta anergia clonal

El reconocimiento por las células T de un complejo MHC-péptido antigénico causa en ocasiones un estado de falta de respuesta llamado **anergia clonal**, caracterizado por incapacidad de las células de proliferar en respuesta a un complejo péptido-MHC. El desarrollo de expansión o anergia clonal depende de la presencia o ausencia de una señal coestimuladora (señal 2), que se produce por la interacción de CD28 en células T con B7 en

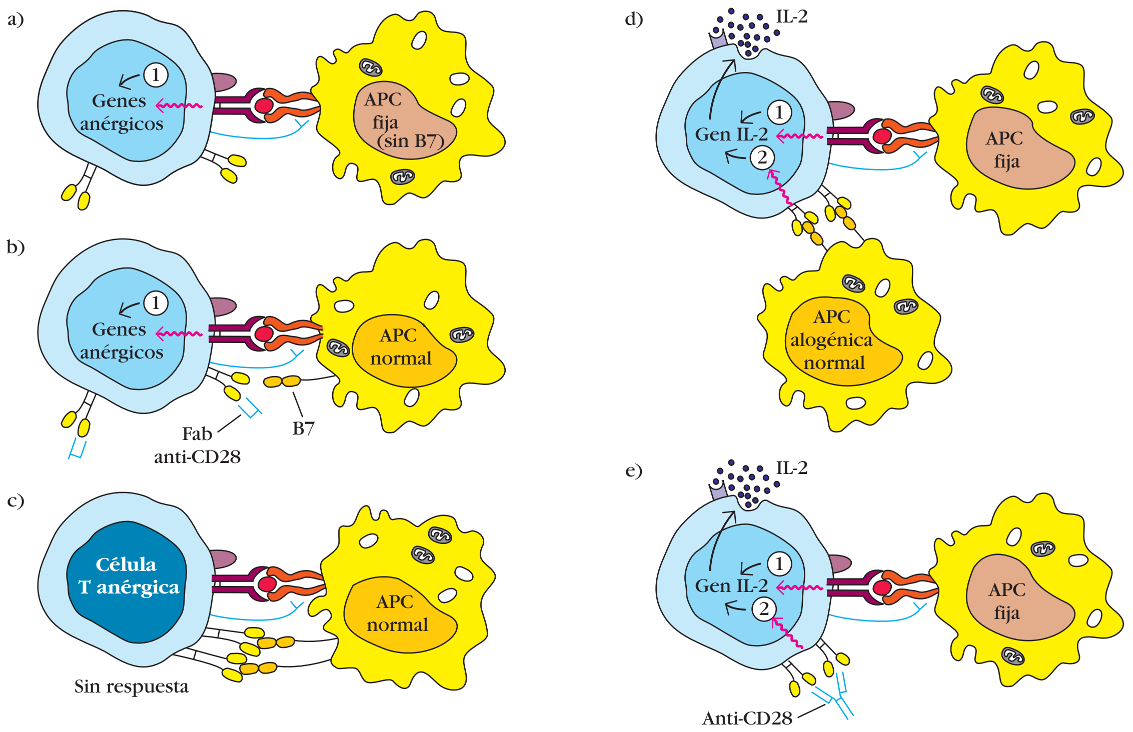


FIGURA 10-15 Demostración experimental de la anergia clonal en oposición a la expansión clonal. a, b) Sólo se genera la señal 1 cuando se incuban células T_H en reposo con células presentadoras de antígeno (APC) fijadas con glutaraldehído o con APC normales en presencia de la porción Fab de anti-CD28. c) Las células T anérgicas resultantes no pueden responder a APC normales. d y e) En presencia de APC alogénicas normales o anti-CD28, que producen la señal coestimuladora 2, las APC fijas activan las células T.

células presentadoras de antígeno. Experimentos con células cultivadas demuestran que si una célula T en reposo recibe la señal mediada por TCR (señal 1), sin la presencia de una señal coestimuladora adecuada, entonces la célula T se torna anérgica. De modo específico, si se incuban células T en reposo con APC fijadas por glutaraldehído, que no expresan B7 (fig. 10-15a), las APC fijadas son capaces de presentar péptidos junto con moléculas MHC clase II, lo que suministra la señal 1, pero no pueden proporcionar la señal 2 coestimuladora necesaria. Cuando no existe una señal coestimuladora, la producción de citocinas es mínima, en especial de IL-2. También es posible inducir anergia al incubar células T con APC normales en presencia de la porción Fab de anti-CD28, que bloquea la interacción de CD28 con B7 (fig. 10-15b).

Dos experimentos de control diferentes demostraron que las APC fijas que llevan complejos de péptido y MHC apropiados pueden suministrar una señal eficaz mediada por receptores de célula T. En un experimento se incubaron células T con APC fijas que llevaban complejos péptido-MHC reconocidos por el TCR y con APC normales que expresan B7 (fig. 10-15d). Las APC fijas ocuparon los TCR de las células T, y las moléculas B7 en la superficie de las APC enlazaron en forma cruzada el CD28 de las células T. Por consiguiente, estas células T recibieron ambas señales y sufrieron activación. La adición de anti-CD28 bivalente a mezclas de APC fijas y células T también ofrece una coestimulación eficaz al enlazar en forma cruzada CD28 (fig. 10-15e).

Existen pruebas sólidas de que tanto las células T $CD4^+$ como las $CD8^+$ pueden ser anergizadas, pero la mayoría de los estudios sobre anergia se han realizado con células T_H $CD4^+$. Una célula T puede ser anergizada de varias maneras. Además de la falta de señales coestimuladoras (señal 2), la presencia de CTLA-4 en una célula que ha recibido tanto la señal 1 como la señal 2 puede bloquear la coestimulación y funcionalmente dar por resultado anergia. Si bien se ha establecido la existencia de la anergia, no se comprenden del todo las vías de señalización bioquímicas precisas que regulan este estado de falta de respuesta. Sin embargo, durante los últimos años mediante sistemas experimentales con análisis de microarreglos (cap. 22) se han identificado varios componentes moleculares clave de las células T anérgicas, incluidas varias ligasas de ubicuitina que al parecer marcan componentes fundamentales de la vía de señalización de TCR para su degradación por el proteasoma.

Los superantígenos inducen la activación de células T al unir el TCR y el MHC II de modo simultáneo

Los superantígenos son proteínas víricas o bacterianas que se unen de manera simultánea al dominio V_β de un receptor de célula T y a la cadena alfa de una molécula MHC clase II. Se han identificado superantígenos exógenos y endógenos. El enlace cruzado de un receptor de célula T y una molécula MHC clase II por cualquier tipo de superantígeno produce una señal activadora que induce la activación y proliferación de células T (fig. 10-16).

Los superantígenos *exógenos* son proteínas solubles secretadas por bacterias. Entre ellos se encuentra una variedad de **exotoxinas** secretadas por bacterias grampositivas, como las enterotoxinas estafilocócicas, la toxina del síndrome de choque

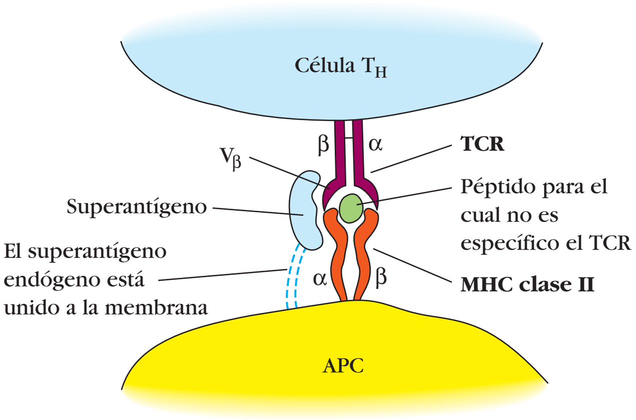

Célula T_H
V_β
β
α
TCR
Superantígeno
Péptido para el cual no es específico el TCR
El superantígeno endógeno está unido a la membrana
α
β
MHC clase II
APC

FIGURA 10-16 Formación mediada por superantígeno de enlaces cruzados entre receptor de célula T y moléculas MHC clase II. Un superantígeno se une a todos los TCR que llevan una secuencia V_β particular sin importar cuál sea su especificidad antigénica. Los superantígenos exógenos son proteínas bacterianas solubles secretadas e incluyen varias exotoxinas. Los superantígenos endógenos son proteínas alojadas en la membrana que ciertos virus producen; incluyen antígenos Ml codificados por virus de tumor mamario de ratón.

tóxico y la toxina de la dermatitis exfoliativa. Cada uno de estos superantígenos exógenos une secuencias particulares de V_β en receptores de células T (cuadro 10-3) y enlaza en forma cruzada el TCR a una molécula MHC clase II.

Los superantígenos *endógenos* son proteínas de membrana celular que codifican ciertos virus que infectan células de mamíferos. Un grupo, codificado por virus del tumor mamario de ratón (MTV), puede integrarse en el DNA de ciertas cepas de ratones endogámicos; después de la integración se expresan proteínas retrovíricas en la membrana de las células infectadas. Estas proteínas, denominadas **determinantes menores de estimulación de linfocitos (Ml)**, unen secuencias particulares de V_β en el receptor de la célula T y unen de manera cruzada el TCR a una molécula MHC clase II. Se han reconocido cuatro superantígenos Ml originados en diferentes cepas de MTV.

Debido a que los superantígenos se unen fuera de la hendidura de unión de antígeno del TCR, cualquier célula T que expresa una secuencia particular V_β es activada por un superantígeno correspondiente. En consecuencia, la activación es policlonal y puede afectar un porcentaje importante (aproximadamente 5%) de la población total de T_H. Las activaciones masivas consecutivas al enlace cruzado por un superantígeno dan por resultado la producción excesiva de citocinas de células T_H, que conducen a toxicidad sistémica. La intoxicación alimentaria inducida por enterotoxinas estafilocócicas y el choque inducido por la toxina del síndrome de choque tóxico son dos ejemplos de las consecuencias de la producción excesiva de citocinas inducida por superantígenos.

Los superantígenos también pueden influir en la maduración de las células T en el timo. La presencia de un superantígeno en el timo durante el procesamiento tímico activa la selección negativa de todos los timocitos que llevan un dominio V_β de TCR correspondiente a la especificidad del superantígeno. Esta eliminación masiva puede deberse a superantígenos exógenos o endógenos y se caracteriza por ausencia de todas las células T cuyos receptores poseen los dominios V_β incluidos por el superantígeno.

Diferenciación de la célula T

Las células T $CD4^+$ y $CD8^+$ salen del timo y pasan a la circulación como células en reposo en la etapa G_0 del ciclo celular. Hay casi el doble de células T $CD4^+$ en comparación con células T $CD8^+$ en la periferia. Las células T que no encuentran aún un antígeno (células T vírgenes) se caracterizan por cromatina

CUADRO 10-3 Superantígenos exógenos y su especificidad de V_β

		ESPECIFICIDAD V_β	
Superantígeno	**Enfermedad***	**Ratón**	**Ser humano**
Enterotoxinas estafilocócicas			
SEA	Intoxicación alimentaria	1, 3, 10, 11, 12, 17	nd
SEB	Intoxicación alimentaria	3, 8.1, 8.2, 8.3	3, 12, 14, 15, 17, 20
SEC1	Intoxicación alimentaria	7, 8.2, 8.3, 11	12
SEC2	Intoxicación alimentaria	8.2, 10	12, 13, 14, 15, 17, 20
SEC3	Intoxicación alimentaria	7, 8.2	5, 12
SED	Intoxicación alimentaria	3, 7, 8.3, 11, 17	5, 12
SEE	Intoxicación alimentaria	11, 15, 17	5.1, 6.1-6.3, 8, 18
Toxina del síndrome de choque tóxico (TSST1)	Síndrome de choque tóxico	15, 16	2
Toxina de dermatitis exfoliativa (ExFT)	Síndrome de piel escaldada	10, 11, 15	2
Sobrenadante de *Mycoplasma arthritidis* (MAS)	Artritis, choque	6, 8.1-8.3	nd
Exotoxinas pirógenas estreptocócicas (SPE-A, B, C, D)	Fiebre reumática, choque	nd	nd

*La enfermedad es consecuencia de la infección por bacterias que producen los superantígenos indicados.

condensada, muy poco citoplasma y escasa actividad transcripcional. Las células T vírgenes circulan de modo continuo entre los sistemas sanguíneo y linfático. Durante la recirculación, las células T vírgenes residen en tejidos linfoides secundarios, como los ganglios linfáticos. Si una célula virgen no encuentra antígeno en un ganglio linfático, sale a través de los linfáticos eferentes que drenan al final en el conducto torácico y pasa de nueva cuenta a la sangre. Se estima que cada célula T virgen circula de la sangre a los ganglios linfáticos y repite el ciclo cada 12 a 24 horas. Puesto que sólo alrededor de 1 en 10^5 células T vírgenes es específica para cualquier antígeno determinado, esta recirculación a gran escala aumenta las posibilidades de que una célula T virgen encuentre un antígeno apropiado.

Las células T activadas generan células T efectoras y de memoria

Cuando una célula T virgen reconoce un complejo de antígeno y MHC en una célula presentadora de antígeno o una célula blanco apropiada, dicho linfocito se activa y precipita una *reacción primaria* (o respuesta primaria). Unas 48 horas después de la activación, la célula T virgen crece hasta convertirse en un blastocito y comienza a experimentar ciclos repetidos de división celular. Como ya se describió, la activación depende de una señal inducida por la inclusión del complejo TCR y una señal coestimuladora inducida por la interacción de CD28-B7 (fig. 10-16). Estas señales estimulan la entrada de la célula T en la fase G_1 del ciclo celular y al mismo tiempo provocan la transcripción del gen para IL-2 y la cadena α del receptor de IL-2 de alta afinidad (CD25). Además, la señal coestimuladora incrementa la vida media del mRNA de IL-2. El aumento de la transcripción de IL-2, junto con la estabilización del mRNA de IL-2, incrementa 100 veces la producción de IL-2 en la célula T activada. La secreción de IL-2 y su unión subsecuente al receptor de IL-2 de alta afinidad inducen a la célula T virgen activada a proliferar y diferenciarse (fig. 10-17). Las células T activadas de este modo se dividen dos a tres veces por día durante cuatro a cinco días, lo que crea una extensa clona de células progenitoras, que se diferencian en poblaciones de células T de memoria o efectoras.

Las diversas *células T efectoras* llevan a cabo funciones especializadas, como secreción de citocinas y ayuda a células B (células T_H $CD4^+$ activadas) y actividad citotóxica destructora (CTL $CD8^+$). En el capítulo 14 se describen con detalle la liberación y actividad de los linfocitos T citotóxicos (CTL). Las células efectoras derivan de células vírgenes y de memoria después de la activación de antígeno. Las células efectoras tienen vida corta, de unos cuantos días a pocas semanas. Las poblaciones efectora y virgen expresan diferentes moléculas de membrana celular, que contribuyen a distintos patrones de recirculación.

Como se describe con mayor extensión en el capítulo 12, las células T efectoras $CD4^+$ forman dos subpoblaciones que se distinguen por los grupos distintos de citocinas que secretan. Una población, llamada **subconjunto T_H1**, secreta IL-2, IFN-γ y TNF-β. El subconjunto T_H1 tiene a su cargo las funciones habituales mediadas por células, como la hipersensibilidad de tipo tardío y la activación de linfocitos T citotóxicos. El otro subconjunto, denominado **subconjunto T_H2**, secreta IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10. Este subconjunto funciona con mayor eficacia como colaborador para la activación de células B.

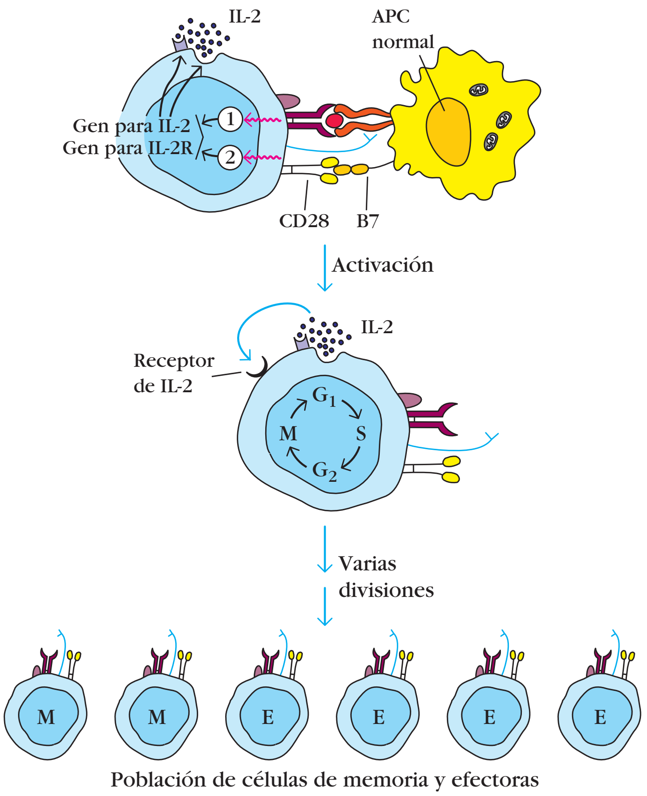


FIGURA 10-17 La activación de una célula T_H por señal 1 y señal 2 coestimuladora aumenta la expresión de IL-2 y receptor de IL-2 de alta afinidad, lo que ocasiona el ingreso de la célula T en el ciclo celular y varios ciclos de proliferación. Algunas de las células se diferencian en efectoras y otras en células de memoria.

La población de *células T de memoria* procede de células T vírgenes (después de que éstas han encontrado antígeno) y de células efectoras (después de la activación y diferenciación antigénicas). Las células T de memoria son células latentes generadas por antígeno, por lo general de vida prolongada, que responden con reactividad muy elevada a un contacto ulterior con el mismo antígeno y ocasionan una *reacción secundaria.* Al parecer, una población expandida de células T de memoria permanece mucho después que disminuye la población de células T efectoras. En general, las células T de memoria expresan muchos de los marcadores de superficie celular de las células T efectoras; no hay marcadores de superficie celular que las identifiquen de manera definitiva como células de memoria.

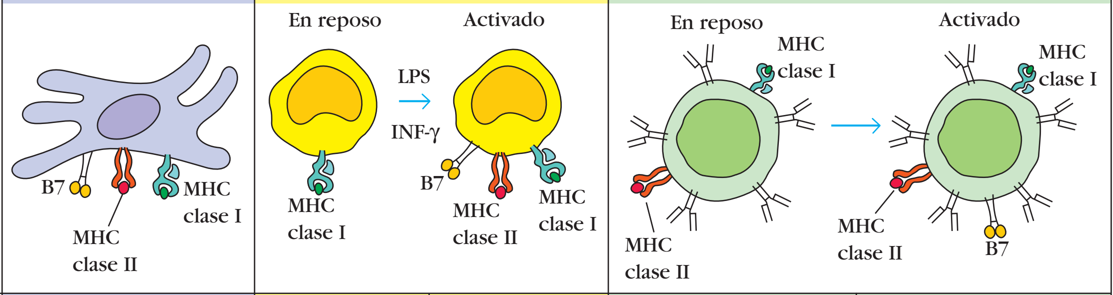
Al igual que las células T vírgenes, casi todas las células T de memoria son células en reposo en la etapa G_0 del ciclo celular pero, al parecer, tienen requerimientos menos rígidos para la activación que las células T vírgenes. Por ejemplo, las células dendríticas activan con mayor frecuencia las células T_H vírgenes, en tanto que las células T_H de memoria pueden activarse por acción de macrófagos, células dendríticas y células B. Se piensa que la expresión de concentraciones elevadas de numerosas moléculas de adhesión por las células T_H de memoria permite que estas células se adhieran a una amplia gama de células presentadoras de antígeno. De igual modo, las células de memoria muestran patrones de recirculación diferentes respecto de las células T vírgenes o efectoras.

Una subpoblación $CD4^+CD25^+$ de células T regula de modo negativo las inmunorreacciones

Durante el inicio de la década de 1970, los investigadores describieron por primera vez poblaciones de células T que podían suprimir reacciones inmunitarias. Estas células se llamaron células T supresoras (T_s) y se pensó que eran células T $CD8^+$. Sin embargo, no se descubrieron las bases celulares y moleculares de la supresión observada y al final surgió una gran duda sobre la existencia de células T supresoras $CD8^+$. Investigaciones recientes demostraron que son en realidad células T que suprimen reacciones inmunitarias. De manera inesperada, estas células resultaron ser células T $CD4^+$ en lugar de $CD8^+$. Dentro de la población de células T $CD4^+CD25^+$ hay células T reguladoras que pueden inhibir la proliferación de otras poblaciones de células T in vitro. Estudios en animales probaron que miembros de la población $CD4^+CD25^+$ inhiben el desarrollo de enfermedades autoinmunitarias, como la enfermedad inflamatoria del intestino inducida de modo experimental, la encefalitis alérgica experimental y la diabetes autoinmunitaria. La supresión por estas células reguladoras es específica de antígeno porque depende de la activación a través del receptor de célula T. Se requiere el contacto celular entre las células supresoras y sus blancos. Si las células reguladoras se activan con antígeno, pero se separan de sus blancos con una barrera permeable, no ocurre la supresión. La existencia de células T reguladoras que suprimen de manera específica reacciones inmunitarias tiene implicaciones clínicas. La reducción o inhibición de células T reguladoras seguida de inmunización puede acentuar las respuestas inmunitarias a vacunas comunes. A este respecto, algunos autores han señalado que la eliminación de células T que evitan reacciones a antígenos tumorales puede facilitar el desarrollo de inmunidad antitumoral. Por el contrario, podría ser útil incrementar la actividad supresora de poblaciones de células T reguladoras en el tratamiento de enfermedades alérgicas o autoinmunitarias. La capacidad de aumentar la actividad de poblaciones de células T reguladoras también podría ser útil para atenuar el rechazo de órganos y tejidos. Los trabajos futuros sobre esta población de células reguladoras buscarán mayores detalles sobre los mecanismos por los que los miembros de la población de células T $CD4^+CD25^+$ regulan reacciones inmunitarias. También se llevarán a cabo esfuerzos para descubrir formas en que puedan acentuarse las actividades de estas poblaciones para evitar reacciones inmunitarias indeseables y promover las convenientes.

Las células presentadoras de antígeno tienen propiedades coestimuladoras características

Sólo las células presentadoras de antígeno profesionales (células dendríticas, macrófagos y células B) son capaces de presentar antígeno junto con moléculas MHC clase II y llevar la señal coestimuladora necesaria para la activación completa de las células T que conduce a proliferación y diferenciación. Las principales moléculas coestimuladoras que se expresan en células presentadoras de antígeno son las glucoproteínas B7-1 (CD80) y B7-2 (CD86) (fig. 10-14). Las células presentadoras de antígeno profesionales difieren en su capacidad de exhibir antígeno y de iniciar la señal coestimuladora (fig. 10-18).



	Célula dendrítica	Macrófago		Linfocito B	
		En reposo	Activado	En reposo	Activado
Captación de antígeno	Endocitosis, fagocitosis (por células de Langerhans)	Fagocitosis	Fagocitosis	Endocitosis mediada por receptor	Endocitosis mediada por receptor
Expresión de MHC clase II	Constitutiva (+++)	Inducible (–)	Inducible (++)	Constitutiva (++)	Constitutiva (+++)
Actividad coestimuladora	Constitutiva B7 (+++)	Inducible por B7 (–)	Inducible por B7 (++)	Inducible por B7 (–)	Inducible por B7 (++)
Activación de célula T	Células T vírgenes Células T efectoras Células T de memoria	(–)	Células T efectoras Células T de memoria	Células T efectoras Células T de memoria	Células T vírgenes Células T efectoras Células T de memoria

FIGURA 10-18 Las diferencias en las propiedades de las células presentadoras de antígeno afectan su capacidad de mostrar antígeno e inducir la activación de células T. Obsérvese que la activación de células T efectoras y de memoria no requiere la molécula B7 coestimuladora.

Las células dendríticas expresan de modo constitutivo valores altos de moléculas MHC clases I y II y también concentraciones altas de B7-1 y B7-2. Por esta razón, las células dendríticas son activadores muy potentes de células T vírgenes, de memoria y efectoras. En contraste, todas las otras APC profesionales deben ser activadas para que expresen moléculas B7 coestimuladoras en sus membranas; por lo tanto, los macrófagos en reposo no son capaces de activar células T vírgenes y son activadores deficientes de células T de memoria y efectoras. Los macrófagos pueden ser activados por fagocitosis de bacterias o productos bacterianos como LPS (lipopolisacáridos) o por IFN-γ, una citocina derivada de T_H1. Los macrófagos activados aumentan su expresión de moléculas MHC clase II y moléculas B7 coestimuladoras. De este modo, los macrófagos activados son activadores comunes de células T de memoria y efectoras, pero se considera que su eficacia para activar células T vírgenes es mínima.

Las células B también sirven como células presentadoras de antígeno en la activación de células T. Las células B en reposo expresan moléculas MHC clase II, pero no moléculas B7 coestimuladoras. En consecuencia, las células B en reposo no pueden activar células T vírgenes, aunque sí las poblaciones de células T efectoras y de memoria. Al activarse las células B aumenta su expresión de moléculas MHC clase II y comienzan a expresar B7. Estas células B activadas pueden activar ahora células T vírgenes así como las poblaciones de memoria y efectoras.

Muerte celular y poblaciones de células T

La muerte celular es una característica importante del desarrollo en todos los organismos multicelulares. Durante la vida fetal se utiliza para moldear y configurar, al eliminar células innecesarias para proporcionar contorno y forma. También es una propiedad relevante de la homeostasis de linfocitos, que devuelve las poblaciones de células T y B a sus concentraciones adecuadas después de estímulos para la proliferación inducidos por antígeno. La apoptosis también tiene un papel crucial en la eliminación de timocitos potencialmente autorreactivos durante la selección negativa y en la eliminación de células T en desarrollo incapaces de reconocer moléculas MHC propias (por no haber experimentado selección positiva).

Aunque la inducción de apoptosis incluye diferentes señales que dependen de los tipos celulares implicados, la muerte real de la célula es un proceso muy conservado entre vertebrados e invertebrados. Por ejemplo, puede inducirse a las células T para que mueran por medio de muchas señales diferentes, que incluyen supresión de factor de crecimiento, tratamiento con glucocorticoides o señalización por TCR. Cada una de estas señales incluye vías de señalización únicas, pero en todos los casos la muerte real de la célula comprende la activación de un grupo especializado de proteasas conocidas como *caspasas.* La acción de estas proteasas se descubrió por primera vez en estudios de muertes celulares programadas por el desarrollo en el nematodo *Caenorhabditis elegans*, en el que se demostró que la muerte de las células dependía totalmente de la actividad de un gen que codificaba una proteasa de cisteína con especificidad por residuos de ácido aspártico. En la actualidad se sabe que en los mamíferos hay cuando menos 14 proteasas de cisteína o caspasas, y todas las muertes celulares requieren la actividad de cuando menos un subconjunto de estas moléculas. Se sabe asimismo que en esencia cada célula del cuerpo produce proteínas caspasa, lo que hace pensar que cada célula tiene el potencial de iniciar su propia muerte.

Las células se protegen también de la muerte apoptósica bajo circunstancias normales al conservar en su interior las caspasas en forma inactiva. Cuando reciben la señal de muerte apropiada, se activan ciertas caspasas por escisión proteolítica y activan a su vez otras caspasas, lo que conduce a la activación de *caspasas efectoras.* Esta cascada catalítica culmina con la muerte de las células. Aunque no se comprende bien la forma en que la activación de caspasas tiene como resultado directo la muerte apoptósica de las células, tal vez implica la rotura de blancos críticos necesarios para la supervivencia celular.

Las células T utilizan dos vías diferentes para activar caspasas (fig. 10-19). En células T periféricas, la estimulación por antígeno da lugar a la proliferación de células T estimuladas y la producción de varias citocinas que incluyen IL-2. Una vez que se activan, las células aumentan la expresión de dos proteínas de superficie celular fundamentales relacionadas con la muerte de células T, Fas ligando Fas (FasL). Cuando Fas se une a su ligando, FasL, se recluta FADD (proteína relacionada con Fas con dominio de muerte) y se une a Fas, a lo que sigue la incorporación de procaspasa 8, una forma inactiva de caspasa 8. La vinculación de FADD y procaspasa 8 ocasiona la escisión proteolítica de procaspasa 8 hasta su forma activa; luego la caspasa 8 inicia una cascada proteolítica que lleva a la muerte de la célula.

Aparte de la que ocurre en el timo, la mayor parte de la apoptosis de células T maduras mediada por TCR se lleva a cabo por la vía de Fas. La estimulación repetida o persistente de células T periféricas da por resultado la coexpresión de Fas y el ligando Fas, seguida de muerte apoptósica de las células. La muerte de células T mediada por Fas/FasL consecutiva a activación se denomina *muerte celular inducida por activación* (AICD, del inglés *activation-induced cell death*), es un mecanismo homeostásico mayor que regula el tamaño del fondo común de células T y elimina las que reaccionan a la estimulación por antígenos propios.

La importancia de Fas y FasL en la eliminación de células T activadas es apoyada por el caso de los ratones *lpr/lpr*, una mutación que ocurre de manera natural y que causa una Fas no funcional. Cuando se activan células T en estos ratones no opera la vía Fas/FasL; no dejan de proliferar células T, que producen IL-2 y conservan un estado activado. Estos ratones desarrollan de manera espontánea enfermedades autoinmunitarias, tienen cantidades excesivas de células T y demuestran con claridad las consecuencias de la falta de eliminación de células T activadas. Una mutación adicional, *gld/gld*, también suministra información. Estos ratones carecen de FasL funcional y muestran casi las mismas anormalidades que se reconocen en los ratones *lpr/lpr.* En fecha reciente se notificó en caso de pacientes con defectos en Fas. Como cabría esperar, estos individuos muestran las características de una enfermedad autoinmunitaria (véase el enfoque clínico).

Fas y FasL son miembros de una familia de receptor/ligandos relacionada que incluye el factor de necrosis tumoral (TNF) y su ligando TNFR (receptor de factor de necrosis tumoral). Al igual que Fas y FasL, el TNFR unido a membrana interactúa con TNF para inducir apoptosis. Asimismo, tal y como se observa

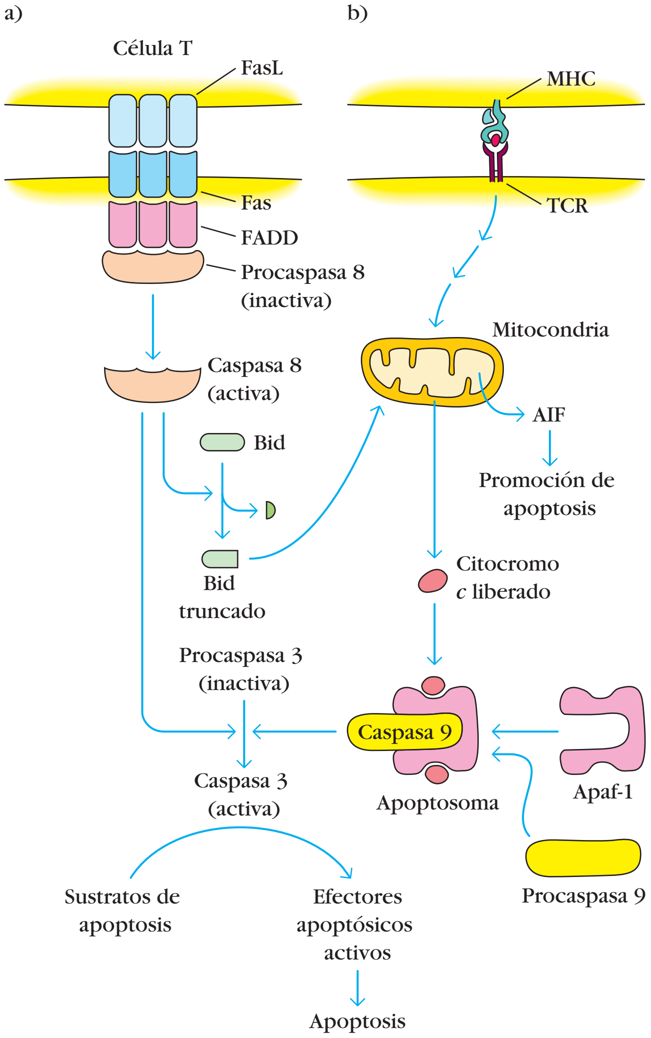


FIGURA 10-19 Dos vías para la apoptosis en células T. a) Se inducen células T periféricas activadas para que expresen valores altos de Fas y FasL. Este último induce la trimerización de Fas en una célula vecina. FasL también puede incluir Fas en la misma célula y emitir una señal de muerte autoinducida. La trimerización de Fas conduce a la incorporación de FADD, que a su vez lleva a la segmentación de moléculas relacionadas de procaspasa 8 para formar caspasa 8 activa. La caspasa 8 escinde la procaspasa 3 y produce caspasa 3 activa, que provoca la muerte de la célula. La caspasa 8 también puede segmentar Bid a una forma truncada capaz de activar la vía mitocondrial de muerte. b) Otras señales, como la inclusión del TCR por complejos de péptido y MHC en una APC, activan la vía mitocondrial de muerte. Una característica fundamental de esta vía es la liberación de AIF (factor inductor de apoptosis) y citocromo *c* de la membrana mitocondrial interna hacia el citosol. El citocromo *c* interactúa con Apaf-1 y, después, con procaspasa 9 para formar el apoptosoma activo. Este último inicia la escisión de procaspasa 3 y produce caspasa 3 activa, que inicia la fase de ejecución de la apoptosis por proteólisis de sustancias cuya rotura lleva la célula a la apoptosis. *[Adaptada en parte de S. H. Kaufmann y M. O. Hengartner, 2001,* Trends in Cell Biology ***11**:526.]*

con la apoptosis inducida por Fas/FasL, la muerte inducida por TNF/TNFR resulta de la activación de caspasa 8 seguida de la activación de caspasas efectoras como la caspasa 3.

Además de la activación de la apoptosis a través de proteínas receptoras de muerte, como Fas y TNFR, las células T pueden morir por otras vías que no activan procaspasa 8. Por ejemplo, la selección negativa en el timo induce la muerte apoptósica de células T en desarrollo a través de una vía de señalización que se origina en el receptor de célula T (TCR). Si bien aún no se comprende por completo por qué algunas señales a través del TCR inducen selección positiva y otras selección negativa, se sabe que la potencia de la señal tiene una acción crítica. Una señal de selección negativa potente induce una vía para apoptosis en la cual las mitocondrias tienen un papel central. En las vías apoptósicas dependientes de mitocondrias el citocromo *c* escapa hacia el citosol, que en condiciones normales reside en la membrana mitocondrial interna. El citocromo *c* se une a una proteína conocida como Apaf-1 (factor 1 activador de proteasa apoptósica) y experimenta cambio conformacional y oligomerización dependientes de ATP. La unión de la forma oligomérica de Apaf-1 a procaspasa 9 tiene como resultado su transformación en caspasa 9 activa. El complejo de citocromo *c*/Apaf-1/caspasa 9, llamado *apoptosoma*, rompe de forma proteolítica procaspasa 3 y genera caspasa 3 activa, que inicia una cascada de reacciones que destruyen la célula (fig. 10-19). Por último, las mitocondrias también liberan otra molécula, AIF (factor inductor de apoptosis), que participa en la inducción de la muerte celular.

La muerte celular inducida por Fas/FasL es inmediata, con activación rápida de la cascada de caspasa que conduce a la muerte de la célula en dos a cuatro horas. Por otra parte, la selección negativa inducida por TCR es al parecer un proceso más tortuoso y requiere la activación de varios procesos que incluyen falla de la membrana mitocondrial, liberación del citocromo *c* y formación del apoptosoma antes de que participen las caspasas. En consecuencia, la selección negativa mediada por TCR puede requerir hasta ocho a 10 horas.

Una característica relevante en la vía de muerte celular inducida por mitocondria es el papel regulador de los miembros de la familia Bcl-2. Bcl-2 y Bcl-XL residen en la membrana mitocondrial. Estas proteínas son inhibidores potentes de la apoptosis, y si bien aún no se aclara de qué manera anulan la muerte celular, una hipótesis propone que regulan de alguna manera la liberación de citocromo *c* de las mitocondrias. Existen cuando menos tres grupos de miembros de la familia Bcl-2. Los del grupo I son antiapoptósicos e incluyen Bcl-2 y Bcl-XL. Los miembros de los grupos II y III son proapoptósicos e incluyen Bax y Bak en el grupo II y Bid y Bim en el grupo III. Pruebas sólidas indican que las concentraciones de miembros de la familia Bcl-2 antiapoptósica tienen una función esencial en la regulación de la apoptosis en linfocitos. Los miembros de la familia Bcl-2 se dimerizan, y los del grupo antiapoptósico pueden controlar la apoptosis al dimerizarse con miembros proapoptósicos, lo que bloquea su actividad. Como se indica en la figura 10-19, la escisión de Bid, catalizada por la caspasa 8 generada por la vía Fas, puede cambiar a la vía mitocondrial. Por lo tanto, las señales que se inician a través de Fas también pueden incluir la vía mitocondrial de muerte.

Si bien es obvio que existen varios modos en que un linfocito puede señalarse para que muera, todas estas vías para la muerte celular convergen en la activación de caspasas. Esta parte de la vía de muerte celular, la fase de ejecución, es común a casi todas las vías de muerte que se conocen, sea en vertebrados o invertebrados, y demuestra que la apoptosis es un proceso antiguo conservado a través de la evolución.

ENFOQUE CLÍNICO

La falta de apoptosis causa homeostasis defectuosa de linfocitos

Para un sistema inmunitario eficaz es en extremo importante conservar las cifras apropiadas de los diversos tipos de linfocitos. Uno de los elementos fundamentales en esta regulación es la apoptosis mediada por el sistema Fas/FasL. Los resúmenes siguientes de historiales médicos muestran lo que puede suceder cuando falla este mecanismo regulador esencial.

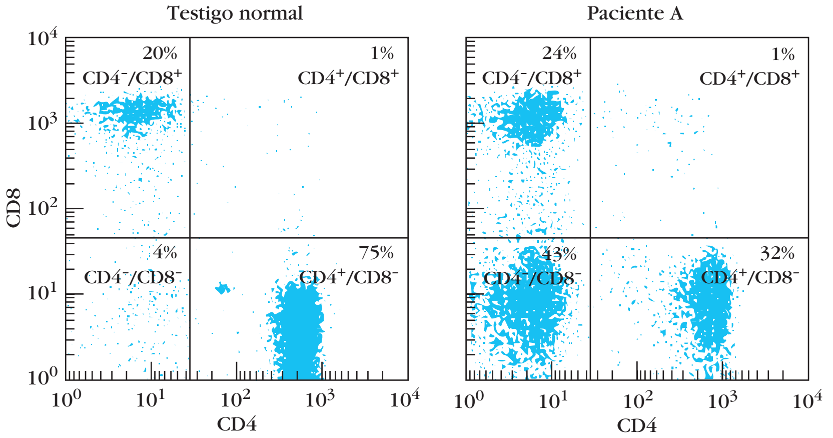
Paciente A: una mujer, en la actualidad de 43 años de edad, tiene un antecedente prolongado de desequilibrios inmunitarios y otros problemas médicos. Hacia los dos años de edad se le diagnosticó el síndrome de Canale-Smith (CSS), un crecimiento grave de tejidos linfoides como ganglios linfáticos (linfadenopatía) y bazo (esplenomegalia). La biopsia de ganglios linfáticos mostró que, en común con muchos otros pacientes con CSS, tenía cifras muy elevadas de linfocitos. Presentaba cantidades reducidas de plaquetas (trombocitopenia) y, debido a que se lisaban sus glóbulos rojos, era anémica (anemia hemolítica). La disminución de la cifra de plaquetas y la lisis de glóbulos rojos pudieron seguirse hasta la acción de anticuerpos circulantes que reaccionaron con estos componentes del hospedador. A los 21 años de edad se le diagnosticó crecimiento notable de ganglios linfáticos pélvicos, que fue necesario extirpar. Diez años después se encontró de nueva cuenta que tenía una masa crecida en el abdomen, que tras la extirpación quirúrgica resultó ser un agregado de ganglios linfáticos de 250 g. Prosiguió la linfadenopatía leve y, algo característico de estos individuos, las poblaciones de linfocitos de los ganglios crecidos tenían cifras elevadas de células T (87% en comparación con el intervalo normal de 48 a 67% de células T). El examen de estas células mediante citometría de flujo y marcaje con anticuerpo fluorescente reveló un exceso de células T doblemente negativas (véase la primera figura). Asimismo, al igual que muchos sujetos con síndrome de Canale-Smith, había padecido cáncer de mama a los 22 años y de la piel a los 22 y 41 años de edad.

Paciente B: un varón a quien se le diagnosticó síndrome de Canale-Smith mostró linfadenopatía y esplenomegalia graves cuando era lactante y niño. Se trató desde los cuatro a los 12 años de edad con corticosteroides y el fármaco inmunosupresor mercaptopurina. Al parecer, estos medicamentos ayudaron y la tumefacción de los tejidos linfoides se tornó más leve durante la adolescencia y la vida adulta. A los 42 años murió de cáncer de hígado.

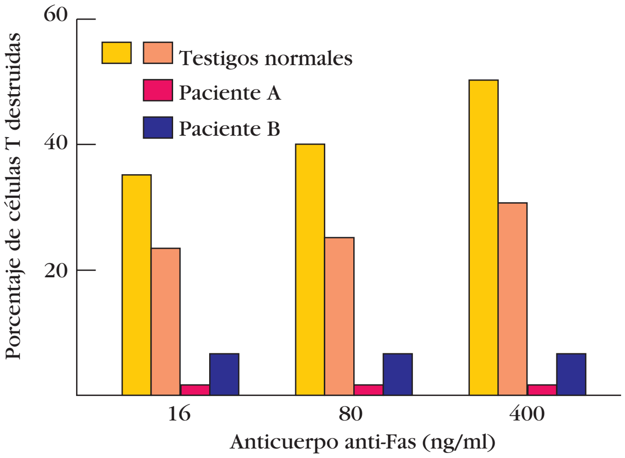
Paciente C: un niño de ocho años de edad, hijo del paciente B, también estaba afectado con el síndrome de Canale-Smith y mostró cifras elevadas de células T y linfadenopatía grave a la edad de siete meses. A los dos años de edad su bazo creció tanto que fue necesario extirparlo. También presentó anemia hemolítica y trombocitopenia. Sin embargo, aunque continuó con cifras elevadas de células T, la gravedad de su anemia hemolítica y la trombocitopenia se habían controlado hasta el momento con metotrexato, un fármaco inhibidor de la síntesis de DNA que se utiliza para inmunosupresión y quimioterapia en cáncer.

El reconocimiento de estas consecuencias graves de la falta de regulación de la cifra de linfocitos, que se ejemplifica con estos historiales de casos, provino del estudio detallado de varios niños cuyos tejidos linfoides crecidos llamaron la atención médica. En cada uno de estos casos del síndrome de Canale-Smith, el examen reveló ganglios linfáticos muy crecidos de 1 a 2 cm de tamaño y, en ocasiones, lo bastante grandes para deformar la anatomía local. En cuatro niños de un grupo de cinco que se estudiaron, el bazo era tan masivo que fue necesario extirparlo.

Aunque el cuadro clínico en el síndrome de Canale-Smith puede variar de una persona a otra, pues algunos pacientes sufren afección crónica grave y otros sólo episodios esporádicos de debilidad, existe



Análisis por citometría de flujo de células T en la sangre del paciente A y un sujeto testigo. La tinción relativa por un anticuerpo anti-CD8 se muestra en el eje *y* y la tinción relativa por un anticuerpo anti-CD4 en el eje *x*. Las células T maduras son CD4$^+$ o CD8$^+$. Si bien casi todas las células T en los sujetos testigo son CD4$^+$ o CD8$^+$, el paciente con CSS muestra cifras altas de células T doblemente negativas (43%), que no expresan CD4 ni CD8. En los cuadrantes se indica el porcentaje de cada categoría de células T. *[Adaptada de M. D. Drappa et al., 1996,* New England Journal of Medicine ***335:****1643.]*



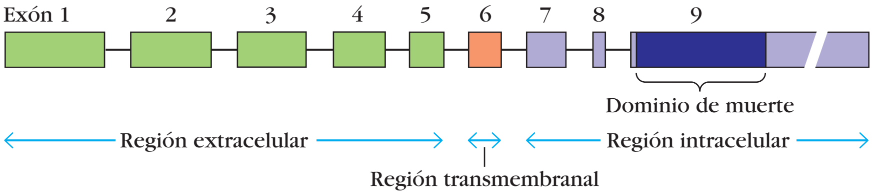
La muerte mediada por Fas ocurre cuando se forman enlaces cruzados entre Fas y FasL, su ligando normal, o por el tratamiento con un anticuerpo anti-Fas, que de manera artificial forma enlaces cruzados con moléculas Fas. Este experimento muestra la reducción de las cifras de células T después de inducir apoptosis en células T de pacientes y testigos mediante enlace cruzado de Fas con cantidades crecientes de un anticuerpo monoclonal anti-Fas. Las células T de pacientes con síndrome de Canale-Smith (A y B) son resistentes a la muerte mediada por Fas. *[Adaptada de M. D. Drappa et al., 1996,* New England Journal of Medicine ***335:****1643.]*

una característica común: incapacidad de los linfocitos activados de experimentar la apoptosis mediada por Fas. El aislamiento y la secuenciación de genes de Fas de varios pacientes y más de 100 testigos revelaron que los enfermos con CSS son heterocigotos (*fas*$^{+/-}$) en el locus *fas* y, por tanto, portan una copia de un gen *fas* defectuoso. Una comparación de la muerte celular mediada por Fas en células T de testigos normales (que no portan genes Fas mutantes) con la muerte inducida en células T de pacientes con CSS mostró un defecto notable en la muerte inducida por Fas (véase la segunda figura). La caracterización de los genes Fas que se observaron en pacientes con CSS hasta la fecha revela que tienen mutaciones en la región de esta proteína que codifica el dominio inductor de muerte (el “dominio de muerte”) o alrededor de ella (véase la tercera figura). Estas mutaciones dan por resultado la producción de proteína Fas que carece de actividad biológica, pero compite aún con moléculas Fas normales por interacciones con componentes especiales de la vía de muerte mediada por Fas. Se han encontrado otras mutaciones en el dominio extracelular de Fas, que a menudo se vinculan con formas más leves de CSS o ninguna afección en lo absoluto.

Varios grupos de investigadores llevaron a cabo estudios clínicos detallados de pacientes con CSS e hicieron las observaciones generales siguientes:

- Las poblaciones de células de la sangre y de tejidos linfoides de pacientes con CSS muestran aumento notable (cinco hasta 20 veces) de las cifras de linfocitos de todas las variedades, incluidas células T, células B y células asesinas naturales (NK).
- La mayoría de los pacientes tiene concentraciones elevadas de una o más clases de inmunoglobulina (hipergammaglobulinemia).
- La hiperactividad inmunitaria es la que causa fenómenos autoinmunitarios, como la producción de autoanticuerpos contra glóbulos rojos, que ocasionan anemia hemolítica y depresión de las cifras de plaquetas debido a la actividad de autoanticuerpos antiplaquetarios.

Estas observaciones establecen la importancia de la regulación de las poblaciones de linfocitos mediada por la muerte en la homeostasis de estos últimos. Esta mortalidad es necesaria porque la respuesta inmunitaria a antígenos causa un incremento súbito y notable de la población de clonas de linfocitos que responden y deforma temporalmente la representación de estas clonas en el repertorio. Cuando no existe muerte celular, la estimulación periódica de linfocitos que ocurre en el curso normal de la vida precipitaría un crecimiento progresivo y al final insostenible de las cifras de linfocitos. Como lo demuestra el síndrome de Canale-Smith, sin la selección esencial de linfocitos por apoptosis puede presentarse una enfermedad grave que pone en peligro la vida.



Mapa del locus *fas*. El gen *fas* se compone de nueve exones separados por ocho intrones. Los exones 1 a 5 codifican la parte extracelular de la proteína, el exón 6 la región transmembranal y los exones 7 a 9 la región intracelular de la molécula. Gran parte del exón 9 tiene a su cargo la codificación del dominio de muerte crítico. *[Adaptada de G. H. Fisher et al., 1995,* Cell ***81:****935.]*

RESUMEN

- Las células T progenitoras de la médula ósea pasan al timo y reordenan sus genes de receptor de célula T (TCR). En la mayoría de los casos, estos timocitos reordenan genes de TCR αβ y se constituyen en células T αβ. Una minoría pequeña reordena genes de TCR γδ y se tornan en células T γδ.
- Los timocitos más tempranos carecen de CD4 y CD8 detectables y se denominan células doblemente negativas. Durante el desarrollo, la mayor parte de los timocitos doblemente negativos evolucionan a células T αβ $CD4^+CD8^-$ o células T αβ $CD4^-CD8^+$.
- La selección positiva en el timo elimina células T incapaces de reconocer MHC propio y es la base de la restricción en MHC. La selección negativa elimina timocitos que llevan receptores de alta afinidad para moléculas MHC propio solas o antígeno propio más MHC propio y produce autotolerancia.
- La activación de las células T se inicia por la interacción del complejo TCR-CD3 con un complejo de péptido y MHC en una célula presentadora de antígeno. La activación también requiere la actividad de moléculas accesorias, incluidos los correceptores CD4 y CD8. La inclusión del TCR activa muchas vías intracelulares diferentes de transducción de señales.
- Las células T que expresan CD4 reconocen antígeno asociado con una molécula MHC clase II y suelen funcionar como células T_H; las células T que expresan CD8 reconocen antígeno asociado con moléculas MHC clase I y por lo general funcionan como células T_C.
- Además de las señales mediadas por el receptor de célula T y sus moléculas accesorias relacionadas (señal 1), la activación de la célula T_H requiere una señal coestimuladora (señal 2) proporcionada por la célula presentadora de antígeno. La señal coestimuladora habitualmente es inducida por interacción entre moléculas de la familia B7 en la membrana de la APC con CD28 en la célula T_H. La inclusión por B7 de CTLA-4, una molécula relacionada cercana de CD28, inhibe la activación de la célula T.
- La inclusión del TCR por péptido antigénico y MHC puede inducir activación o anergia clonal. La presencia o ausencia de una señal coestimuladora (señal 2) determina si la activación tiene como resultado expansión clonal o anergia clonal.
- Las células T vírgenes son células en reposo (G_0) que aún no encuentran antígeno. La activación de células vírgenes conduce a la generación de células T efectoras y de memoria. Las células T de memoria, que se activan con mayor facilidad que las células vírgenes, tienen a su cargo las respuestas secundarias. Las células efectoras viven poco tiempo y llevan a cabo funciones colaboradora, citotóxica o de hipersensibilidad tardía.
- El repertorio de células T es modelado por apoptosis en el timo y la periferia.

Bibliografía

Ashton-Rickardt, P. G., et al. 1994. Evidence for a differential avidity model of T-cell selection in the thymus. *Cell* **74:**577.

Bosselut, R. 2004. CD4/CD8-lineage differentiation in the thymus: from nuclear effectors to membrane signals. *Nature Reviews Immunology* **4:**529-40.

Davis, D. M., and M. L. Dustin. 2004. What is the importance of the immunological synapse? *Trends in Immunology* **25:**323-27.

Drappa, M. D., et al. 1996. Fas gene mutations in the Canale-Smith syndrome, an inherited lymphoproliferative disorder associated with autoimmunity. *New England Journal of Medicine* **335:**1643.

Grakoui, A., et al. 1999. The immunological synapse: a molecular machine controlling T cell activation. *Science* **285:**221-27.

Hayday, A. 2000. γδ Cells: a right time and right place for a conserved third way of protection. *Annual Review of Immunology* **18:**1975.

Herman, A., J. W. Kappler, P. Marrack, and A. M. Pullen. 1991. Superantigens: mechanism of T-cell stimulation and role in immune responses. *Annual Review of Immunology* **9:**745.

Huang, Y., and R. L. Wange. 2004. T cell receptor signaling: beyond complex complexes. *Journal of Biological Chemistry* **279:**28827-30.

Irvine, D. J., M. A. Purbhoo, M. Krogsgaard, and M. M. Davis. 2002. Direct observation of ligand recognition by T cells. *Nature* **419:**845-49.

Macian, F. 2005. NFAT proteins: key regulators of T-cell development and function. *Nature Review of Immunology* **5:**472-84.

Myung, P. S., N. J. Boerthe, and G. A. Koretzky. 2000. Adapter proteins in lymphocyte antigen-receptor signaling. *Current Opinion in Immunology* **12:**256.

Palmer, E. 2003. Negative selection—clearing out the bad apples from the T-cell repertoire. *Nature Reviews Immunology* **3:**383-91.

Rothenberg, E. V., and T. Taghon, T. 2005. Molecular genetics of T cell development. *Annual Review of Immunology* **23:**601-49.

Rothenberg, E. V., M. A. Yui, and J. C. Telfer. 2002. T cell developmental biology. In *Fundamental Immunology,* 5th ed., W. Paul, ed. Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia.

Salomon, B., and J. A. Bluestone. 2001. Complexities of CD28/B7: CTLA-4 costimulatory pathways in autoimmunity and transplantation. *Annual Review of Immunology* **19:**225.

Vaishnaw, A. K., et al. 1999. The molecular basis for apoptotic defects in patients with CD95 (Fas/Apo-1) mutations. *Journal of Clinical Investigation* **103:**355.

Weil, R., and A. Israel. 2004. T-cell-receptor-and-B-cell-receptor-mediated activation of NF-kappaB in lymphocytes. *Current Opinion in Immunology* **16:**374-81.

Zuniga-Pflucker, J. C. 2004. T-cell development made simple. *Nature Review of Immunology* **4:**67-72.

Sitios útiles de la red

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Omim/

El sitio Online Mendelian Inheritance in Man contiene un subsitio que caracteriza 10 diferentes enfermedades hereditarias que se acompañan de defectos del complejo TCR o proteínas adjuntas.

http://www.ultranet.com/~jkimball/BiologyPages/A/Apoptosis.html

http://www.ultranet.com/~jkimball/BiologyPages/B/B_and_Tcells.html

Estos subsitios del portal John Kimball's Biology Pages Web proporciona una introducción clara a la biología de la célula T y una buena exposición básica de la apoptosis.

http://www.bioscience.org/knockout/knochome.htm

Dentro de Frontiers in Bioscience Database of Gene Knockouts, es posible encontrar información sobre los efectos de la manipulación de muchos genes que participan en el desarrollo y la actividad de las células T.

Preguntas de estudio

PREGUNTA DE ENFOQUE CLÍNICO Durante un período de varios años, un grupo de niños y adolescentes recibió con regularidad dosis del compuesto X, un fármaco que salva la vida. Sin embargo, además de sus efectos benéficos, este medicamento interfiere en la señalización mediada por Fas.

a. ¿Qué manifestaciones clínicas de este efecto secundario del compuesto X podrían observarse en estos pacientes?
b. Si los glóbulos blancos de un paciente afectado se tiñen con un anticuerpo anti-CD4 marcado con fluoresceína y un anticuerpo anti-CD8 marcado con ficoeritrina, ¿qué se observaría en el análisis citométrico de flujo de estas células? ¿Qué patrones cabría esperar si se llevara a cabo el mismo procedimiento en glóbulos blancos de un testigo sano?

1. Hay una clona de CTL CD8$^+$ (de un ratón H-2^k) que tiene un receptor de célula T específico para el antígeno H-Y. Se clonan los genes de TCR αβ de esta línea celular clonada y se utilizan para crear ratones transgénicos con el haplotipo H-2^k o H-2^d.

   a. ¿Cómo pueden diferenciarse los timocitos inmaduros de los timocitos CD8$^+$ maduros en ratones transgénicos?
   b. Por cada ratón transgénico indicado en el cuadro siguiente, indique con (+) o (−) si el ratón tendría timocitos CD8$^+$ inmaduros doblemente positivos y timocitos CD8$^+$ maduros que portan el receptor de célula T transgénico.
   c. Explique sus respuestas para los transgénicos H-2^k.
   d. Explique sus respuestas para los transgénicos H-2^d.

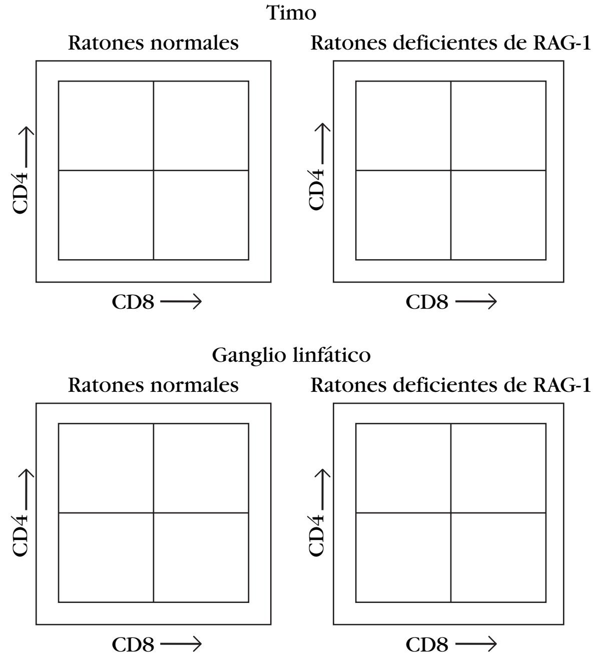
Ratón transgénico	Timocitos inmaduros	Timocitos CD8$^+$ maduros
Hembra H-2^k		
Macho H-2^k		
Hembra H-2^d		
Macho H-2^d		

2. La ciclosporina y la FK506 son fármacos inmunosupresores potentes que se administran a receptores de trasplantes. Ambos medicamentos impiden la formación de un complejo entre calcineurina y Ca^{2+}/calmodulina. Explique por qué estos compuestos suprimen los aspectos del rechazo del trasplante mediados por células T. (Sugerencia: véase la figura 10-12.)

3. La activación antigénica de células T_H conduce a la liberación o inducción de varios factores nucleares que estimulan la transcripción génica.

   a. ¿Qué factores de transcripción que apoyan la proliferación de células T activadas se encuentran en el citoplasma de células T en reposo en formas inactivas?
   b. Una vez en el núcleo, ¿qué pueden hacer estos factores de transcripción?

4. El lector dispone de anti-CD4 marcado con fluoresceína y anti-CD8 marcado con ficoeritrina. Utilice estos anticuerpos para teñir timocitos y células de ganglios linfáticos de ratones normales y ratones con desactivación de RAG-1. En los cuadros de la figura adjunta, dibuje las gráficas FACS que cabría esperar.



5. A fin de demostrar experimentalmente la selección tímica positiva, los investigadores analizaron los timocitos de ratones normales H-2^b, que tienen una eliminación del gen *IE* clase II, y de ratones H-2^b con desactivación del gen *IA* clase II.

   a. ¿Qué moléculas MHC se encontrarían en células presentadoras de antígeno de ratones normales H-2^b?
   b. ¿Qué moléculas MHC se encontrarían en células presentadoras de antígeno de ratones H-2^b con desactivación de IA?
   c. ¿Cabría esperar células T CD4$^+$, células T CD8$^+$ o ambas en cada tipo de ratón? ¿Por qué?

6. En sus clásicos experimentos con ratones quiméricos, Zinkernagel tomó médula ósea del ratón 1 y timo del ratón 2 y los trasplantó a un ratón 3, que estaba timectomizado y radiado con dosis letales. A continuación inoculó al ratón reconstituido con virus LCM y extrajo sus células esplénicas. Más adelante se incubaron estas últimas con células blanco infectadas con virus LCM que tenían diferentes haplotipos de MHC y se vigiló la lisis de las células blanco. En el cuadro de la página 270 se muestran los resultados de estos dos experimentos con cepas H-2^b de ratones C57BL/6 y cepas H-2^d de ratones BALB/c.

Experimento	Donador de médula ósea	Receptor timectomizado y radiado	Lisis de células blanco infectadas por LCM		
			$H\text{-}2^d$	$H\text{-}2^k$	$H\text{-}2^b$
A	C57BL/6 × BALB/c	C57BL/6 × BALB/c	+	−	−
B	C57BL/6 × BALB/c	C57BL/6 × BALB/c	−	−	+

a. ¿Cuál era el haplotipo de la cepa donante de timo en los experimentos A y B?
b. ¿Por qué las células blanco H-2^b no estaban lisadas en el experimento A, pero sí en el B?
c. ¿Por qué las células blanco H-2^k no estaban lisadas en ambos experimentos?

7. Llene los espacios en blanco en cada afirmación siguiente (a-k) con el (los) término(s) más apropiado(s) del cuadro adjunto. Los términos pueden utilizarse una vez, más de una vez o ninguna vez.

fosfatasa(s) de proteína	CD8	MHC clase I	CD45
cinasa(s) de proteína	CD4	MHC clase II	B7
CD28	IL-2	IL-6	CTLA-4

a. $p56^{Lck}$ y ZAP-70 son __________.
b. ____________ es una proteína de membrana de la célula T que tiene dominios citolíticos con actividad de fosfatasa.
c. Las células dendríticas expresan __________ de manera constitutiva, en tanto que las células B deben activarse antes de expresar esta molécula de membrana.
d. La activación de células T_H tiene como resultado la secreción de _________ y la expresión de su receptor, que conduce a proliferación y diferenciación.
e. La señal coestimuladora necesaria para la activación completa de células T es inducida por la interacción de ______ ______ en la célula T y ___________ en la APC.
f. Los ratones con desactivación génica que carecen de moléculas MHC clase I no producen timocitos portadores de ____________.
g. Los macrófagos deben ser activados antes de expresar moléculas ___________ y moléculas _________.
h. Las células T que portan ____________ no existen en ganglios linfáticos de ratones con desactivación génica que carecen de moléculas MHC clase II.
i. El PIP_2 es escindido por _________ para formar DAG y IP_3.
j. En células T activadas, el DAG activa una ___________, que actúa para generar el factor de transcripción NF-κB.
k. ___________ estimula y _________ inhibe la activación de células T cuando se une a _________ o en células presentadoras de antígeno.

8. Se desea determinar el porcentaje de diversos tipos de timocitos en una muestra de células de timo de ratón mediante el método de inmunofluorescencia indirecta.

a. Primero se tiñe la muestra con anti-CD3 de cabra (anticuerpo primario) y a continuación con Ig anticabra marcada con FITC de conejo (anticuerpo secundario), que confiere una coloración verde. El análisis de la muestra teñida mediante citometría de flujo indica que 70% de las células está teñido. Con base en estos resultados, ¿cuántas de las células del timo en la muestra expresan receptores de unión de antígeno en su superficie? ¿Expresarían todas el mismo tipo de receptor? Explique su respuesta. ¿Cuáles son tal vez las células no teñidas restantes?
b. Se separan las células $CD3^+$ con el seleccionador celular activado por fluorescencia (FACS) y se tiñen de nueva cuenta. En este caso, el anticuerpo primario es anti-CD4 de cobayo y el anticuerpo secundario es Ig anticobayo marcada con PE de conejo, que emite un tono rojo. El análisis de células $CD3^+$ teñidas muestra que 80% de ellas está teñida. Con base en estos resultados, ¿es posible determinar cuántas células T_C se encuentran en esta muestra? Si es así, ¿cuántas células T_C hay? Si no existen, ¿qué experimento adicional se llevaría a cabo a fin de determinar el número de células T_C?

9. Muchos de los efectos de la unión del TCR con MHC y péptido pueden duplicarse con la administración de ionomicina junto con éster forbol. La ionomicina es un ionóforo de Ca^{2+}, un compuesto que permite que los iones calcio en el medio crucen la membrana plasmática y penetren en la célula. Los ésteres forbol son análogos del diacilglicerol (DAG). ¿Por qué la administración de forbol y ionóforos de calcio simula muchos efectos de la inclusión del receptor de célula T?

10. ¿Qué efectos en la muerte celular cabría esperar en ratones que llevan a cabo las modificaciones genéticas siguientes? Explique sus respuestas.

a. Ratones transgénicos para BCL-2 que expresan en exceso esta proteína.
b. Ratones con desactivación de caspasa 8.
c. Ratones con desactivación de caspasa 3.

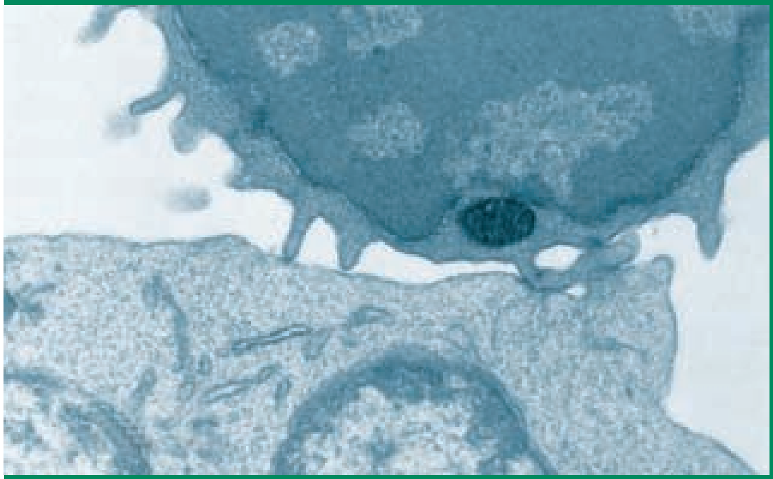
11. En este capítulo se identificaron y comentaron varios temas básicos de la transducción de señales. ¿Cuáles son estos temas? Considere los procesos de transducción de señales de la activación de la célula T y proporcione un ejemplo de seis de los siete temas analizados.

12. Si bien la mayor parte de las células T del cuerpo humano expresan TCR αβ, hasta 5% de las células T expresan en cambio el TCR γδ. Explique la diferencia de reconocimiento antigénico entre estos dos tipos de células.

13. Es posible encontrar células T que no son estimuladas cuando se les presenta su antígeno cognado, mientras que existen otras células T que actúan como células efectoras sin que se les haya presentado antes su antígeno cognado. Explique cómo puede ocurrir tal activación o falta de activación de células T. En su respuesta compare los procesos de señalización que lleven a estas reacciones.

capítulo 11

Generación, activación y diferenciación de la célula B



Contacto inicial entre células B y T. [Tomada de V. M. Sanders et al., 1986, J. Immunol. 137:2395.]

- Maduración de la célula B
- Activación y proliferación de la célula B
- Reacción humoral
- Sitios in vivo para la inducción de reacciones humorales
- Centros germinales y diferenciación de la célula B inducida por antígeno
- Regulación de la inmunorreacción efectora

El proceso de desarrollo que tiene como resultado la producción de células B plasmáticas y de memoria puede dividirse en tres amplias etapas: generación de células B maduras inmunocompetentes (maduración), activación de células B maduras cuando interactúan con antígeno, y diferenciación de células B activadas en plasmáticas y de memoria. En muchos vertebrados, incluidos seres humanos y ratones, la médula ósea genera células B. Este proceso es una secuencia ordenada de reordenamientos del gen de Ig que progresa en ausencia de antígeno. Ésta es la fase independiente de antígeno en el desarrollo de la célula B.

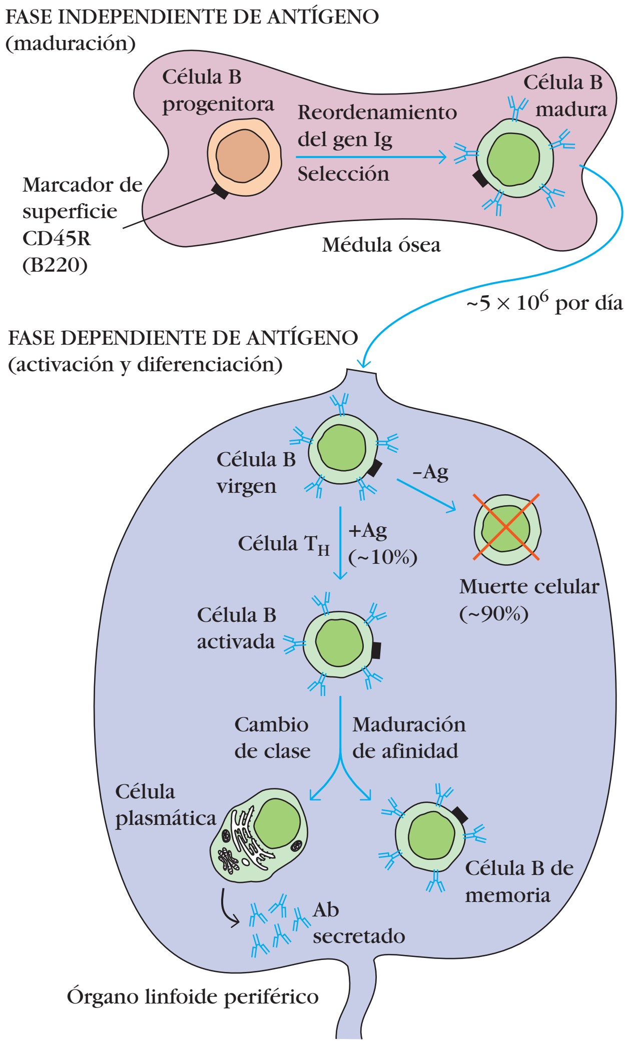
Una célula B madura sale de la médula ósea y expresa inmunoglobulina unida a membrana (mIgM y mIgD) con especificidad antigénica única. Estas células B **vírgenes**, que aún no tienen contacto con el antígeno, circulan en la sangre y linfa y se trasladan a los órganos linfoides secundarios, en especial el bazo y los ganglios linfáticos (cap. 2). Si una célula B es activada por interacción con un antígeno que es reconocido por su anticuerpo unido a membrana, la célula prolifera (expansión clonal) y se diferencia para crear una población de células plasmáticas secretoras de anticuerpo y otra de células B de memoria. Como consecuencia de la activación, algunas células B experimentarán **maduración de afinidad**, el incremento progresivo de la afinidad promedio de los anticuerpos producidos conforme ocurre la respuesta a la activación. Muchas también sufrirán un **cambio de clase**, la conversión del isotipo del anticuerpo producido por la célula B de μ a γ, α o ϵ. Debido a que la activación y diferenciación de la célula B en la periferia requiere antígeno, esta etapa comprende la fase del desarrollo de la célula B dependiente de antígeno.

Muchas células B se producen en la médula ósea durante toda la vida, pero muy pocas de ellas maduran. En ratones, el tamaño del fondo común recirculante de células B es de alrededor de 2×10^9 células. Casi todas ellas circulan como células B vírgenes, que tienen lapsos de vida cortos (vidas medias de menos de tres días a unas ocho semanas) si no encuentran antígeno o pierden la competencia con otras células B por la residencia en un ambiente linfoide favorable. Dado que el sistema inmunitario es capaz de generar una diversidad total de anticuerpos mucho mayor de 10^{10}, sólo una fracción pequeña de este posible repertorio es exhibida en cualquier momento por las inmunoglobulinas de membrana en células B recirculantes. En capítulos previos se describieron algunos aspectos de los procesos del desarrollo de la célula B. En este capítulo se analiza en secuencia la vía total, primero con la célula de linaje B distintiva más temprana. En la figura 11-1 se presentan las generalidades de los principales acontecimientos en seres humanos y ratones. Sin embargo, en estudios con una amplia variedad de vertebrados se ha demostrado una sorprendente variedad de vías y resultados del desarrollo de las células B, algunos de los cuales se pondrán de relieve.

Maduración de la célula B

La generación de células B maduras ocurre primero en el embrión y continúa toda la vida. Antes del nacimiento, los principales sitios de maduración de las células B son el saco vitelino, el hígado fetal y la médula ósea del feto; después las células B maduras se forman en la médula ósea.

FIGURA 11-1 PARA VISUALIZACIÓN DE CONCEPTOS: Desarrollo de la célula B


FASE INDEPENDIENTE DE ANTÍGENO
(maduración)
Célula B progenitora
Reordenamiento del gen Ig
Selección
Célula B madura
Marcador de superficie CD45R (B220)
Médula ósea
~5 × 10^6 por día
FASE DEPENDIENTE DE ANTÍGENO
(activación y diferenciación)
Célula B virgen
–Ag
Célula T_H
+Ag (~10%)
Muerte celular (~90%)
Célula B activada
Cambio de clase
Maduración de afinidad
Célula plasmática
Célula B de memoria
Ab secretado
Órgano linfoide periférico

Durante la fase de maduración independiente de antígeno, en la médula ósea se generan células B inmaduras que expresan IgM de membrana. Estas células llegan al torrente sanguíneo y se convierten en células B vírgenes maduras que expresan tanto mIgM como mIgD. Sólo alrededor de 10% de las posibles células B llegan a la madurez y salen de la médula ósea. Las células B vírgenes en la periferia mueren en el transcurso de unos cuantos días a menos que encuentren un antígeno proteico soluble y células T_H activadas. Una vez que se activan las células B, proliferan dentro de órganos linfoides secundarios. Las que llevan una mIg de afinidad alta se diferencian en células plasmáticas y células B de memoria, que pueden expresar diferentes isotipos por cambio de clase. Las cifras citadas se refieren al desarrollo de células B en el ratón, pero los principios generales se aplican también al ser humano.

Las células B progenitoras proliferan en la médula ósea

El desarrollo de la célula B se inicia cuando las células madre linfoides se diferencian hacia el linaje de célula B distintivo más temprano —la **célula B progenitora (célula pro-B)**— que expresa una fosfatasa de tirosina transmembranal denominada CD45R (llamada en ocasiones B220 en ratones). La proliferación y diferenciación de células pro-B en **células B precursoras (células pre-B)** requieren el microambiente que proporcionan las células estromales de la médula ósea. Si se extraen células pro-B de la médula ósea y se cultivan in vitro, no avanzan a las etapas de células B maduras a menos que existan las células del estroma. Estas últimas tienen dos funciones relevantes: interactúan de forma directa con células pro-B y pre-B y secretan varias citocinas, en especial IL-7, que sustentan el proceso del desarrollo.

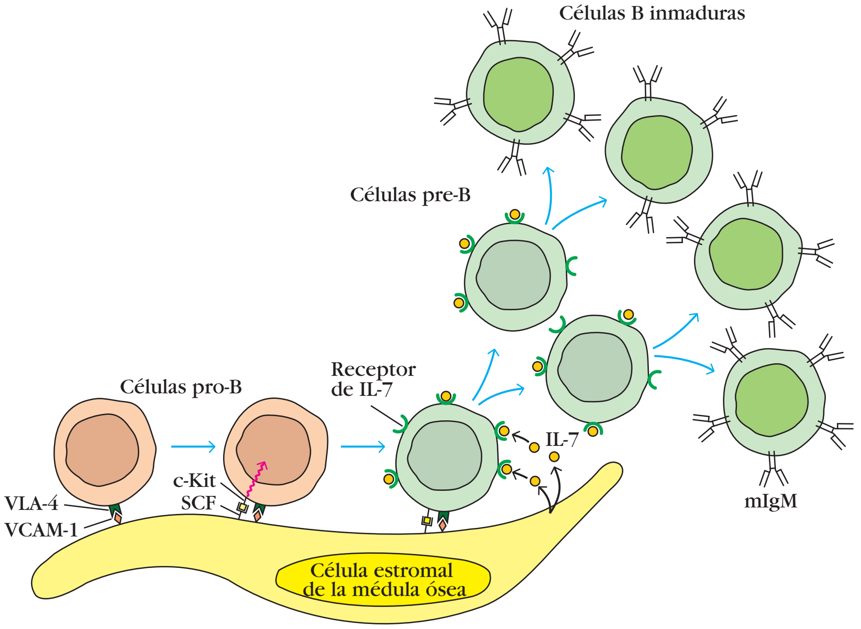


FIGURA 11-2 Para la maduración de células B progenitoras en células B precursoras se requieren células estromales de la médula ósea. Las células pro-B se unen a células del estroma mediante una interacción entre VCAM-1 en la célula estromal y VLA-4 en la célula pro-B. Esta interacción promueve la unión de c-Kit en la célula pro-B al factor de células madre (SCF) en la célula del estroma, lo que desencadena una señal, mediada por la actividad de tirosincinasa de c-Kit, que estimula la célula pro-B a fin de que exprese receptores para IL-7. A continuación, la IL-7 liberada de células estromales se une a los receptores IL-7 e induce la célula pro-B para que madure hasta célula pre-B. La proliferación y diferenciación producen al final células B inmaduras.

En la etapa más temprana del desarrollo, las células pro-B necesitan el contacto directo con células estromales de la médula ósea. Varias moléculas de adhesión celular median esta interacción, entre ellas VLA-4 en la célula pro-B y su ligando VCAM-1 en la célula estromal (fig. 11-2). Una vez establecido el contacto inicial, un receptor en la célula pro-B llamado c-Kit interactúa con una molécula de superficie de la célula estromal conocida como factor de célula madre (SCF). Esta interacción activa de c-Kit, que es una tirosincinasa, y la célula pro-B comienza a dividirse y diferenciarse en una célula pre-B. La IL-7 secretada por las células del estroma se une al receptor de IL-7 en la célula pre-B e impulsa el proceso de maduración; con el tiempo induce una disminución de las moléculas de adhesión en las células pre-B, de tal manera que las células en proliferación pueden desprenderse de las células estromales. En esta etapa, para el desarrollo de las células pre-B no se requiere más el contacto directo con células del estroma pero sigue requiriéndose de IL-7.

El reordenamiento del gen de inmunoglobulina (Ig) produce células B inmaduras

La maduración de la célula B depende del reordenamiento del DNA de la inmunoglobulina en células madre linfoides. En el capítulo 5 se describen los mecanismos del reordenamiento del gen de la inmunoglobulina (Ig). El primero que ocurre en la etapa de célula pro-B es un reordenamiento génico de la cadena pesada D_H en J_H y luego uno de V_H en D_HJ_H (fig. 11-3). Si el primer reordenamiento de la cadena pesada no es productivo, entonces continúa en el otro cromosoma una redisposición V_H-D_H-J_H. Una vez que termina el reordenamiento de la cadena pesada, la célula se clasifica como célula pre-B. La continuación del desarrollo de una célula pre-B a una célula B inmadura requiere un reordenamiento génico de cadena ligera productivo. Debido a la exclusión alélica, en la membrana de una célula B sólo se expresa un isotipo de cadena ligera. La terminación de un reordenamiento de cadena ligera productivo compromete a la célula B ahora inmadura con una especificidad antigénica particular determinada por la secuencia VDJ de la cadena pesada de la célula y la secuencia VJ de la cadena ligera. Las células B inmaduras expresan mIgM (IgM de membrana) en la superficie celular junto con Ig-α e Ig-β, de modo que generan un receptor de célula B (BCR) completamente capaz para iniciar la señalización después de la fijación de antígeno.

Como cabría esperar, las enzimas recombinasas RAG-1 y RAG-2, que se requieren para los reordenamientos génicos de las cadenas pesada y ligera, se expresan durante las etapas de célula pro-B y célula pre-B (fig. 11-3). La enzima transferasa de desoxirribonucleotidilo terminal (TdT), que cataliza la inserción de nucleótidos N en las uniones de codificación de D_H-J_H y V_H-D_H-J_H, es activa durante la etapa de célula pro-B y deja de serlo pronto en la etapa de célula pre-B. Debido a que la expresión de TdT se suspende durante la etapa de célula pre-B cuando ocurre el reordenamiento de la cadena ligera, no suelen encontrarse nucleótidos N en las uniones de codificación de V_L-J_L.

La fase del desarrollo de la célula B en la médula ósea culmina con la producción de una célula B inmadura que porta inmunoglobulina M (IgM). En esta etapa del desarrollo, la célula B no es del todo funcional y el antígeno induce la muerte o la falta de respuesta (anergia) en lugar de la división y diferenciación. La coexpresión de IgD e IgM en la membrana señala la maduración plena. Esta progresión incluye un cambio en el procesamiento del RNA del transcrito primario de cadena pesada para permitir la producción de dos mRNA, uno que codifica la forma de membrana de la cadena μ y el otro que codifica la forma de membrana de la cadena δ. Aunque la IgD es un marcador característico de la superficie celular de células B vírgenes maduras, aún no se aclara su función. Sin embargo, debido a que los ratones con desactivación del gen para inmunoglobulina δ tienen en general cifras normales de células B por completo funcionales, la IgD no es esencial para el desarrollo de la célula B ni para responder al antígeno.

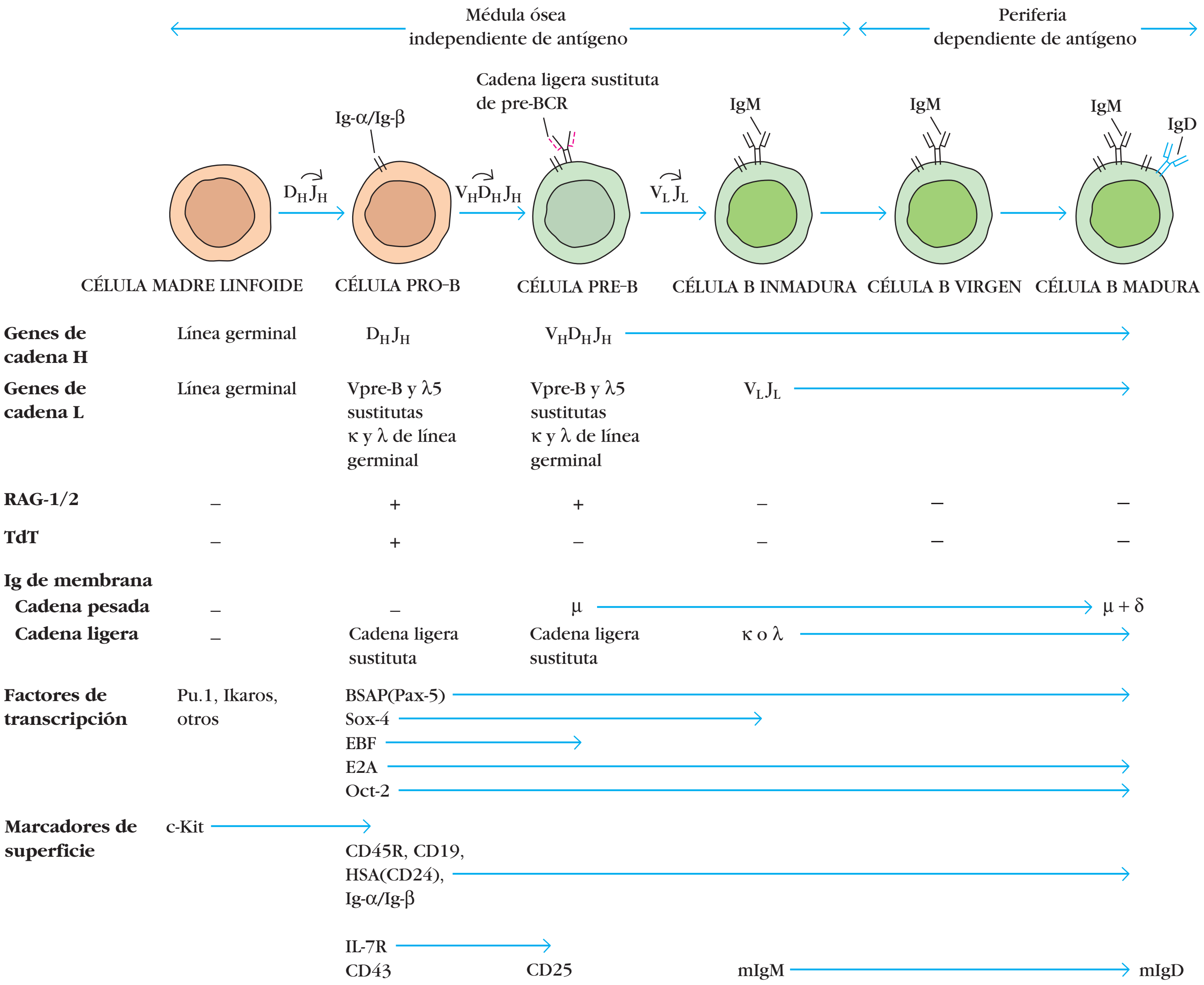

Médula ósea
independiente de antígeno
Periferia
dependiente de antígeno
Ig-α/Ig-β
Cadena ligera sustituta
de pre-BCR
IgM
IgM
IgM
IgD
D_HJ_H
$V_HD_HJ_H$
V_LJ_L
CÉLULA MADRE LINFOIDE
CÉLULA PRO-B
CÉLULA PRE-B
CÉLULA B INMADURA
CÉLULA B VIRGEN
CÉLULA B MADURA
Genes de cadena H
Línea germinal
D_HJ_H
$V_HD_HJ_H$
Genes de cadena L
Línea germinal
Vpre-B y λ5 sustitutas κ y λ de línea germinal
Vpre-B y λ5 sustitutas κ y λ de línea germinal
V_LJ_L
RAG-1/2
–
+
+
–
–
–
TdT
–
+
–
–
–
–
Ig de membrana
Cadena pesada
–
–
μ
μ + δ
Cadena ligera
–
Cadena ligera sustituta
Cadena ligera sustituta
κ o λ
Factores de transcripción
Pu.1, Ikaros, otros
BSAP(Pax-5)
Sox-4
EBF
E2A
Oct-2
Marcadores de superficie
c-Kit
CD45R, CD19, HSA(CD24), Ig-α/Ig-β
IL-7R
CD43
CD25
mIgM
mIgD

FIGURA 11-3 Secuencia de eventos y características de las etapas de maduración de la célula B en la médula ósea. La célula pre-B expresa una inmunoglobulina de membrana que consiste en una cadena pesada (H) y cadenas ligeras sustitutas Vpre-B y λ5. Los cambios en el procesamiento de RNA de transcritos de la cadena pesada después de la etapa de célula pre-B conducen a la síntesis de IgM e IgD de membrana por células B maduras. RAG-1/2 = dos enzimas codificadas por genes que activan la recombinación; TdT = transferasa de desoxirribonucleotidilo terminal. En las diversas etapas del desarrollo de la célula B son importantes varios factores de transcripción relacionados con la célula B; en esta figura se indican algunos.

Para el desarrollo de la célula B es esencial el receptor de célula pre-B

Como se vio en el capítulo 10, durante una etapa del desarrollo de la célula T la cadena β del receptor de célula T se relaciona con pre-Tα para formar el receptor de célula pre-T (fig. 10-2). Durante el desarrollo de la célula B se presenta una situación paralela. En la célula pre-B, la cadena μ de la membrana se une a la **cadena ligera sustituta**, un complejo que consiste en dos proteínas: una secuencia parecida a V llamada **Vpre-B** y otra similar a C, denominada λ5, que se vinculan de manera no covalente para formar una estructura parecida a la cadena ligera.

El complejo de cadena pesada μ y cadena ligera sustituta unido a la membrana se presenta en la célula pre-B enlazado al heterodímero Ig-α/Ig-β para formar el receptor de la célula pre-B (fig. 11-4). Sólo las células pre-B que pueden expresar cadenas pesadas μ unidas a la membrana y vinculadas con cadenas ligeras sustitutas tienen la capacidad de proseguir a lo largo de la vía de maduración.

Se especula que el receptor de la célula pre-B reconoce un ligando aún no identificado en la membrana de la célula estromal y transmite en consecuencia una señal a la célula pre-B que impide el reordenamiento de V_H en D_HJ_H del otro alelo de cadena pesada y conduce por tanto a la exclusión alélica. Después del establecimiento de un receptor de célula pre-B eficaz, cada célula pre-B experimenta múltiples divisiones celulares (quizá seis a ocho), que producen hasta 256 descendientes. Cada una de estas células pre-B de la progenie puede reordenar después diferentes segmentos génicos de la cadena ligera e incrementar así la diversidad total del repertorio de anticuerpo.

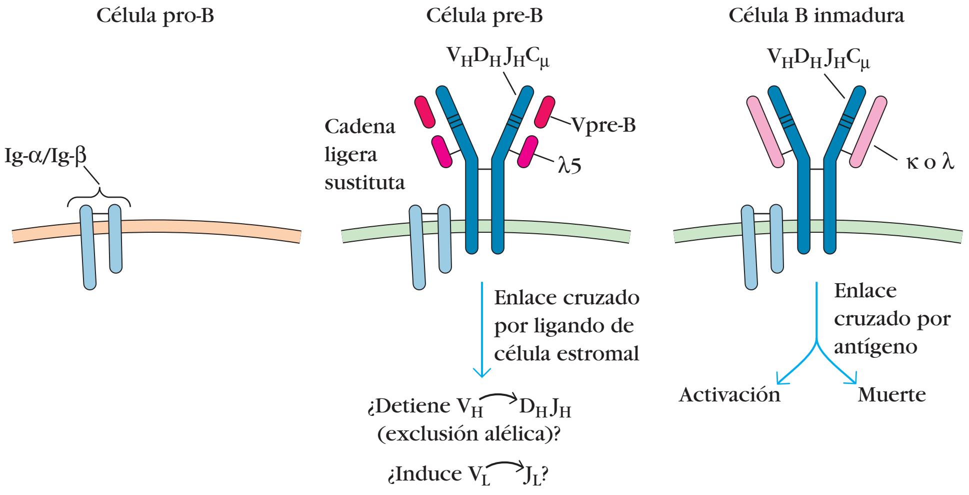


FIGURA 11-4 Diagrama esquemático de la expresión secuencial de inmunoglobulina de membrana y cadena ligera sustituta en diferentes etapas de la diferenciación de la célula B en la médula ósea. El receptor de célula pre-B contiene una cadena ligera sustituta que consiste en un polipéptido Vpre-B y un polipéptido λ5, unidos de manera no covalente. La célula B inmadura no expresa la cadena ligera sustituta y, por el contrario, expresa las cadenas ligeras κ o λ junto con una cadena pesada μ.

La función crítica del receptor de célula pre-B se demostró en ratones con desactivación génica en los que se alteró el gen que codifica la proteína λ5 del receptor. Se probó que en estos ratones se bloqueaba el desarrollo de la célula B en la etapa pre-B, lo que sugiere que es necesaria una señal generada a través del receptor, para que las células pre-B avancen hacia la etapa de células B inmaduras.

En experimentos de desactivación génica se identificaron factores de transcripción esenciales

Como se describe en el capítulo 2, en el desarrollo de las células hematopoyéticas actúan muchos factores de transcripción diferentes. Hasta el momento se ha demostrado que casi una docena de ellos tiene acciones en el desarrollo de la célula B. Los experimentos con factores de transcripción particulares mediante desactivación génica identificaron cuatro de estos factores: **E2A, factor de célula B temprano (EBF), proteína activadora específica de célula B (BSAP)** y **Sox 4**, que son especialmente importantes para el desarrollo de la célula B (fig. 11-3). Todos estos factores de transcripción influyen en el desarrollo en una etapa temprana; algunos de ellos también son activos en fases posteriores. Los ratones que carecen de E2A no expresan RAG-1, no son capaces de llevar a cabo reordenamientos D_HJ_H, y no expresan λ5, un componente esencial de la cadena ligera sustituta. Se observa un patrón similar en ratones con deficiencia de factor de célula B temprano (EBF). Estos datos señalan las funciones relevantes de los factores de transcripción tempranos en el desarrollo de la célula B y pueden tener acciones esenciales en las etapas iniciales del compromiso al linaje de célula B. En ratones con desactivación del gen ***Pax-5***, cuyo producto es el factor de transcripción BSAP, también se detiene el desarrollo de la célula B en una etapa temprana. Se encuentran sitios de unión de BSAP en las regiones promotoras de varios genes específicos de célula B, que incluyen *Vpre-B* y *λ5*, el promotor para *RAG-2*, en diversas regiones de cambio de Ig y en el estimulador de la cadena pesada de inmunoglobulina (Ig). Estas observaciones indican que la BSAP ejerce una acción más allá de las etapas tempranas del desarrollo de la célula B. Este factor también se expresa en el sistema nervioso central, y su ausencia tiene como resultado defectos graves del desarrollo del mesencéfalo. Aunque se desconoce el sitio exacto de acción de Sox-4, es necesario en las etapas tempranas de la activación de la célula B.

Los marcadores de superficie celular identifican las etapas del desarrollo

La progresión del desarrollo de la célula progenitora a la célula B madura se caracteriza por un patrón cambiante de marcadores de superficie (fig. 11-3). En la etapa pro-B, las células no exhiben las cadenas pesadas o ligeras del anticuerpo pero expresan CD45R, que es una forma de la proteína fosfatasa de tirosina presente en leucocitos, y las moléculas de transducción de señales Ig-α/Ig-β, que se relacionan con las formas de anticuerpo de membrana en etapas tardías del desarrollo de la célula B. Las células pro-B también expresan CD19 (parte del correceptor de célula B), CD43 (leucosialina) y CD24, una molécula que también se conoce como antígeno termoestable de superficie. En esta etapa, c-Kit, un receptor para un ligando promotor del crecimiento presente en células estromales, también se encuentra en la superficie de células pro-B. A medida que las células pasan de la etapa pro-B a la pre-B, expresan muchos de los marcadores que existen durante la etapa pro-B; sin embargo, dejan de expresar c-Kit y CD43 y ahora expresan CD25, la cadena α del receptor IL-2. La exhibición del receptor de célula pre-B (pre-BCR) es una característica sobresaliente de la célula pre-B. Después del reordenamiento de la cadena ligera aparece inmunoglobulina de superficie que contiene cadenas pesada y ligera, y las células, que entonces se clasifican como células B inmaduras, pierden el pre-BCR y ya no expresan más CD25. Se dispone de anticuerpos monoclonales que pueden reconocer todos estos marcadores antigénicos y que permitieron identificar y aislar las diversas etapas del desarrollo de la célula B por las técnicas de inmunohistología y citometría de flujo que se describen en el capítulo 6.

Las células B-1 son un subconjunto de células B que se renuevan por sí mismas

Un subconjunto de células B, conocido como células B-1, surge antes que el grupo principal de células B (a veces llamado B-2 debido a su aparición posterior) en seres humanos y ratones. En

IgM
IgD
IgM
CD5

Atributo	Células B comunes (B-2)	Células B-1
Sitios principales	Órganos linfoides secundarios	Cavidades pleural y peritoneal
Fuente de nuevas células B	De precursores en la médula ósea	Autorrenovación (división de células B-1 existentes)
Diversidad de región V	Altamente diversa	Diversidad restringida
Hipermutación somática	Sí	No
Necesidad de ayuda de células T	Sí	No
Isotipos producidos	Altas concentraciones de IgG	Altas concentraciones de IgM
Reacción a antígenos carbohidratos	Posiblemente	Definitivamente
Reacción a antígenos proteicos	Definitivamente	Posiblemente
Memoria	Sí	Muy escasa o nula
IgD de superficie en células B maduras	Presente en células B vírgenes	Escasa o nula

FIGURA 11-5 Comparación de las células B ordinarias y las células B-1. Las células B comunes, que constituyen la mayoría, algunas veces se denominan B-2 porque se desarrollan después de las B-1.

ambas especies, las células B-1 constituyen sólo alrededor de 5% de la población total de células B. (En algunas especies, como conejos y bovinos, la principal población de células B consta de células con muchas de las características de las B-1.) Las células B-1 surgen de células madre durante la vida fetal y expresan IgM de superficie, el marcador emblemático de las células B. Sin embargo, la mayoría de las células B-1 porta IgM de superficie en lugar de IgG y tiene poco o nada de IgD. A diferencia de las células B-2, la población de células B-1 se autorrenueva y puede generar células B-1 vírgenes. Las células B-1 también se distinguen por la exhibición de CD5, un marcador usualmente relacionado con las células T. Sin embargo, el CD5 no es un componente indispensable del linaje B-1. No aparece en las células B-1 de ratas, y los ratones que carecen de un gen CD5 funcional producen aún células B-1. En animales como el ser humano y el ratón, cuyas células B-2 son la principal población de células B, las células B-1 son una población menor en tejidos secundarios como los ganglios linfáticos y el bazo. A pesar de su escasez en muchos sitios linfoides, son el principal tipo de célula B que se halla en las cavidades peritoneal y pleural.

Además de la autorrenovación y la expresión de CD5, otras características distinguen a las células B-1 de las B-2 en seres humanos y ratones. El repertorio de regiones V en las células B-1 es mucho más restringido que el de la población B-2, dominante. Asimismo, los anticuerpos producidos por las células B-1 por lo general se unen al antígeno con menor afinidad que los producidos por la población B-2. Estudios realizados con la población B-1 muestran que estas células presentan mayor probabilidad de ser activadas en respuesta a antígenos como carbohidratos que a proteína. No requieren colaboración de células T y exhiben escasa tendencia a diferenciarse en células de memoria. El cambio de clase no es común, y como ya se mencionó, la mayoría de las células B-1 porta IgM. Esta población también muestra escasa o nula hipermutación somática de genes Ig. En consecuencia no hay maduración de afinidad, lo que puede ser una de las razones por las cuales los anticuerpos producidos por una alta proporción de células B-1 exhiben escasa afinidad por sus antígenos. A pesar de su baja afinidad, muchos de los anticuerpos producidos por células B-1 son multiespecíficos; esto es, pueden unirse a muy diversos antígenos, incluidos algunos presentes en patógenos. Algunos inmunólogos han sugerido que los anticuerpos multiespecíficos producidos por este subconjunto de células B contribuyen a la inmunidad innata del hospedero. Las propiedades de las células B-1 y B-2 se resumen en la figura 11-5.

En la médula ósea se seleccionan negativamente células B autorreactivas

Se estima que en el ratón, la médula ósea produce alrededor de 5×10^7 células B/día, pero sólo 5×10^6 (alrededor del 10%) se incorporan en realidad al fondo común recirculante de células B. Esto significa que 90% de las células B que se producen cada día muere sin salir jamás de la médula ósea. Parte de esta pérdida se atribuye a **selección negativa** y a la eliminación subsecuente (**eliminación clonal**) de células B inmaduras que expresan autoanticuerpos contra antígenos propios en la médula ósea.

Desde hace mucho tiempo se demostró de forma experimental al tratar células B inmaduras con anticuerpo contra la región constante μ, que la formación de enlaces cruzados de mIgM en células B inmaduras puede causar la muerte de las células por apoptosis dentro de la médula ósea. Se piensa que ocurre un proceso similar in vivo cuando las células B inmaduras autorreactivas que expresan mIgM se unen a antígenos propios en la médula ósea. Por ejemplo, D. A. Nemazee y K. Burki introdujeron en ratones H-2^d y H-2$^{d/k}$ un transgén que codificaba las cadenas pesada y ligera de un anticuerpo IgM específico para K^k, una

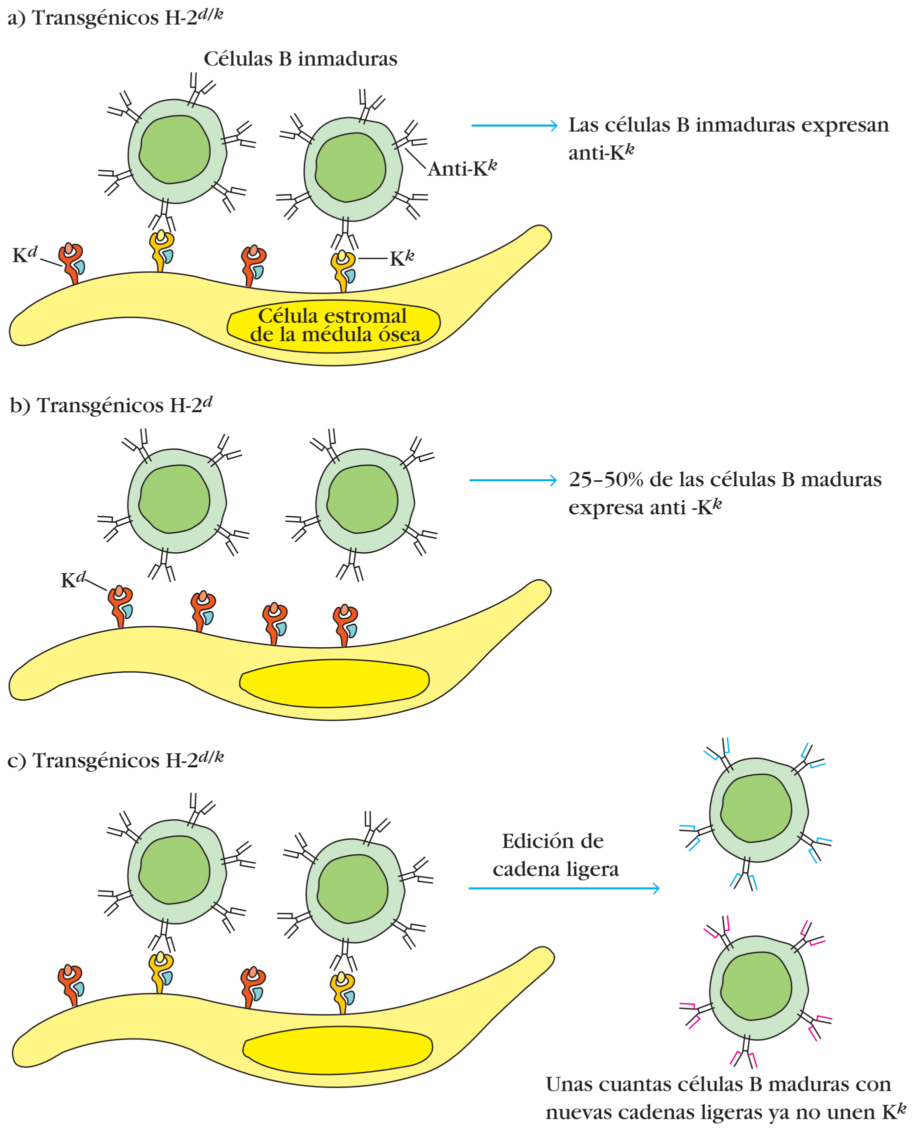

a) Transgénicos H-$2^{d/k}$
Células B inmaduras
Las células B inmaduras expresan anti-K^k
Anti-K^k
K^d
K^k
Célula estromal de la médula ósea
b) Transgénicos H-2^d
25–50% de las células B maduras expresa anti -K^k
K^d
c) Transgénicos H-$2^{d/k}$
Edición de cadena ligera
Unas cuantas células B maduras con nuevas cadenas ligeras ya no unen K^k

FIGURA 11-6 Prueba experimental de la selección negativa (eliminación clonal) de células B autorreactivas durante la maduración en la médula ósea. La presencia o ausencia de células B periféricas maduras que expresan IgM codificada por transgén contra la molécula clase I H-2 K^k se determinaron en ratones H-$2^{d/k}$ (a) y ratones H-2^d (b). En los transgénicos H-$2^{d/k}$, las células B inmaduras reconocieron el antígeno propio K^k y se eliminaron por selección negativa. En los transgénicos H-2^d, las células B inmaduras no se unieron a antígeno propio y, en consecuencia, continuaron hasta la maduración, de tal manera que 25 a 50% de las células B esplénicas expresaron como Ig de membrana la anti-K^k codificada por el transgén. El análisis más detallado de los transgénicos H-$2^{d/k}$ reveló unas cuantas células B periféricas que expresaban la cadena μ codificada por el transgén pero una cadena ligera diferente (c). Al parecer, unas cuantas células B inmaduras experimentaron edición de cadena ligera, de tal modo que no unieron la molécula K^k y por tanto escaparon de la selección negativa. *[Adaptada de D. A. Nemazee y K. Burki, 1989,* Nature ***337****:562; S. L. Tiegs et al., 1993,* Journal of Experimental Medicine ***177****:1009.]*

molécula MHC clase I H-2^k (fig. 11-6a, b). Debido a que las moléculas MHC clase I se expresan en la membrana de todas las células nucleadas, en ratones transgénicos se encontrarían las moléculas MHC clase I endógenas H-2^k y H-2^d en células estromales de la médula ósea. En el ratón H-2^d, que no expresa K^k, la mayoría de las células B periféricas maduras expresó el anti-K^k codificado por transgén, tanto en la forma de membrana como secretado. En contraste, en ratones H-$2^{d/k}$, que expresan K^k, ninguna de las células B periféricas maduras expresó el anticuerpo codificado por el transgén contra H-2^k (cuadro 11-1). Estos resultados sugieren que existe una selección negativa contra cualquier célula B inmadura que exprese autoanticuerpos en sus membranas, ya que estos anticuerpos reaccionan con antígeno propio (p. ej., la molécula K^k en transgénicos H-$2^{d/k}$) presente en células estromales, lo que ocasiona la formación de enlaces cruzados en los anticuerpos y la muerte ulterior de las células B inmaduras.

CUADRO 11-1 Expresión del transgén que codifica anticuerpo IgM contra moléculas MHC clase I H-2^k

		EXPRESIÓN DE TRANSGÉN	
Animal experimental	**Número de animales estudiados**	**Como Ab de membrana**	**Como Ab secretado (μg/ml)**
No transgénicos	13	(−)	<0.3
Transgénicos H-2^d	7	(+)	93.0
Transgénicos H-$2^{d/k}$	6	(−)	<0.3

FUENTE: Adaptado de D. A. Nemazee y K. Burki, 1989, *Nature* **337**:562.

Es posible rescatar células B autorreactivas al editar genes de cadena ligera

En un trabajo ulterior en que se utilizó el sistema transgénico descrito por Nemazee y Burki, se demostró que la selección negativa de células B inmaduras no siempre tiene como resultado su eliminación inmediata (fig. 11-6c). Por el contrario, se detiene la maduración de la célula autorreactiva en tanto la célula B "edita" el gen de cadena ligera de su receptor. En este caso, los transgénicos H-$2^{d/k}$ produjeron unas cuantas células B maduras que expresaron mIgM que contenía la cadena μ codificada en el transgén, pero diferentes cadenas ligeras endógenas. Cuando algunas células B inmaduras unen un autoantígeno se detiene la maduración; las células aumentan la expresión de *RAG-1* y *RAG-2* y comienzan el reordenamiento adicional del DNA endógeno de cadena ligera. Algunas de estas células tienen éxito al reemplazar la cadena ligera del anticuerpo reactivo a autoantígeno con una cadena ligera distinta codificada por segmentos génicos endógenos de cadena λ. Como resultado, estas células comenzarán a expresar una mIgM "editada" con una cadena ligera diferente. Si el uso de una cadena ligera distinta da por resultado un BCR que no es autorreactivo, estas células escapan de la selección negativa y salen de la médula ósea. Pruebas recientes sugieren que la edición de receptor es el principal mecanismo de tolerancia a antígeno expresada en la médula ósea.

Activación y proliferación de la célula B

Una vez que las células B abandonan la médula ósea, ocurren activación, proliferación y diferenciación en la periferia y se requiere antígeno. La activación impulsada por antígeno y la selección clonal de células B vírgenes conducen a la generación de células plasmáticas y células B de memoria. Cuando no existe activación inducida por antígeno, las células B vírgenes periféricas tienen vida corta y mueren en el transcurso de unas cuantas semanas por apoptosis (fig. 11-1).

Los antígenos dependientes e independientes del timo tienen diferentes requerimientos para reaccionar

Observaciones realizadas en ratones desnudos y en personas nacidas sin timo llevaron a advertir que dependiendo de la naturaleza del antígeno, existen dos vías que van de la activación de la célula B a la producción de anticuerpo. Los investigadores observaron que si bien las respuestas a la mayoría de los antígenos requieren del timo (**antígenos dependientes del timo**), unos pocos tipos de antígenos (**antígenos independientes del timo**) inducen anticuerpo incluso en ausencia de timo. La respuesta de células B a antígenos dependientes del timo (TD) requiere de contacto directo con células T_H, no sólo la exposición a citocinas derivadas de T_H. Los antígenos capaces de activar células B en ausencia de este tipo de participación directa de células T_H, son antígenos independientes del timo (TI), los cuales se dividen en tipos 1 y 2 y activan células B por mecanismos diferentes. Algunos componentes de la pared de la célula bacteriana, incluido el lipopolisacárido (LPS), funcionan como *antígenos independientes del timo tipo 1 (TI-1)*. Los *antígenos independientes del timo tipo 2 (TI-2)* son moléculas altamente repetitivas como proteínas poliméricas (p. ej., la flagelina bacteriana) o polisacáridos de la pared de la célula bacteriana con unidades repetidas de polisacárido.

Casi todos los antígenos TI-1 son activadores policlonales de células B (**mitógenos**), es decir, son capaces de activar células B sin importar su especificidad antigénica. Se comprende bien el mecanismo por el cual el antígeno T-1 llamado **lipopolisacárido** (**LPS**), un constituyente importante de las paredes celulares de las bacterias gramnegativas, induce la producción de anticuerpos independientemente de la presencia de células T. El LPS interactúa con dos receptores distintos en las células B. Uno es el receptor tipo Toll TLR4, un importante receptor del sistema inmunitario innato (cap. 3). El otro es el receptor de célula B. Sólo unos cuantos miembros de la población de células B portan BCR específicos para LPS, pero todos ellos tienen TLR4. Aquellas células B con BCR que reconocen LPS son estimuladas para dividirse y secretar anticuerpo anti-LPS por dos vías independientes, que se inician con el BCR o el TLR4. Otras células B (aquellas cuyos BCR no reconocen LPS) son inducidas a dividirse y diferenciarse en células secretoras de anticuerpo por la interacción de LPS con TLR4. La activación de muchas clonas distintas de células B por LPS produce un grupo altamente diverso de anticuerpos, algunos de los cuales pueden interactuar con las bacterias gramnegativas invasoras y causar su neutralización.

La independencia de las células T respecto de los antígenos TI-1 es bien ilustrada por algunos experimentos con ratones desnudos, que carecen de timo y poseen muy pocas células T. Si una población de ratones desnudos se divide en dos grupos, A y B, y al grupo A se inyectan células T de ratones normales, tras lo cual ambos grupos se inmunizan con antígeno TI-1, los dos grupos de animales producirán concentraciones muy similares de anticuerpo contra el antígeno inmunizante. El hecho de que la respuesta de los ratones atímicos no sea aumentada en gran medida por la inyección de células T demuestra que los antígenos TI-1 son en verdad independientes de las células T.

Los antígenos TI-2 activan células B formando enlaces cruzados de manera extensa con el receptor de inmunoglobulina. Los antígenos TI-2 difieren de los antígenos TI-1 en tres aspectos relevantes. Primero, no son mitógenos de la célula B y en consecuencia no actúan como activadores policlonales. Segundo, los antígenos TI-1 activan células B maduras e inmaduras, pero los antígenos TI-2 activan células B maduras y desactivan células B inmaduras. Tercero, aunque la respuesta de las células B a antígenos TI-2 no requiere la participación directa de células T_H, se necesitan citocinas derivadas de células T_H para la proliferación eficiente de la célula B y el cambio de clase a isotipos de inmunoglobulina M (IgM). Este hecho puede demostrarse al comparar el efecto de los antígenos TI-2 en ratones que se tornaron deficientes en células T de diversas formas. En ratones atímicos, que carecen de células T derivadas del timo pero poseen unas cuantas células T provenientes de otros sitios que tal vez se encuentran en el intestino, los antígenos TI-2 precipitan respuestas de célula B. La dependencia parcial de los antígenos TI-2 respecto de poblaciones pequeñas de células T es demostrada por experimentos que muestran que la administración de unas pocas células T a estos ratones deficientes en tales linfocitos restablece su capacidad de inducir respuestas de células B a antígenos TI-2.

CUADRO 11-2 Propiedades de antígenos dependientes e independientes del timo

		ANTÍGENOS TI	
Propiedad	**Antígenos TD**	**Tipo 1**	**Tipo 2**
Naturaleza química	Proteína soluble	Componentes de la pared celular bacteriana (p. ej., LPS)	Antígenos proteicos poliméricos; polisacáridos capsulares
Reacción humoral			
Cambio de isotipo	Sí	No	Limitada
Maduración de afinidad	Sí	No	No
Memoria inmunitaria	Sí	No	No
Activación policlonal	No	Sí (dosis altas)	No

La respuesta humoral a antígenos independientes del timo es diferente de la reacción a antígenos dependientes del timo (cuadro 11-2). La respuesta a antígenos TI casi siempre es más débil, no se forman células de memoria y el anticuerpo predominante que se secreta es IgM, lo que señala un valor bajo de cambio de clase. Estas diferencias destacan la acción importante que llevan a cabo las células T_H en la generación de células B de memoria, la maduración de afinidad y el cambio de clase a otros isotipos.

Dos tipos de señales impulsan a las células B hacia el ciclo celular y a través de él

Las células B vírgenes, o en reposo, son células que no se dividen en la etapa G_0 del ciclo celular. La activación impulsa a las células en reposo hacia el ciclo celular, en el que pasan de G_1 a la fase S, en la que el DNA se duplica. La transición de G_1 a S es un punto de restricción crítico en el ciclo celular. Una vez que una célula llega a S, completa el ciclo celular y pasa por G_2 y hacia la mitosis (M). Para la activación de una célula B a fin de que experimente el ciclo celular se requiere no una, sino dos series distintas de procesos de señalización, denominadas de manera colectiva *señal 1* y *señal 2*. Estos fenómenos de señalización se generan por diferentes vías en respuesta a antígenos TI o TD, pero ambas vías incluyen señales generadas cuando antígeno multivalente se une a mIg formando enlaces cruzados (fig. 11-7).

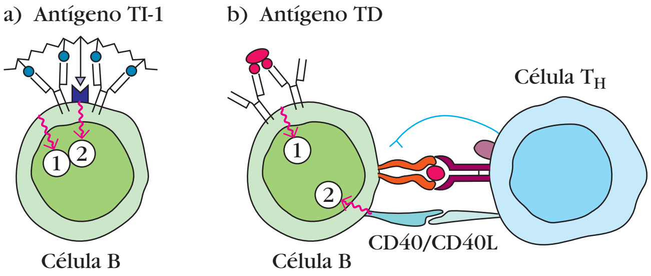


FIGURA 11-7 Una señal efectiva para la activación de células B incluye dos señales distintas inducidas por fenómenos de membrana. La unión de un antígeno tipo 1 independiente del timo (TI-1) a una célula B emite ambas señales. Un antígeno dependiente del timo (TD) proporciona la señal 1 por enlace cruzado con mIg, pero se requiere una interacción separada entre CD40 en la célula B y CD40L en una célula T_H activada para generar la señal 2.

Una vez que la célula B ha sido estimulada por señal 1 y señal 2, lo que incluye citocinas y tal vez otros ligandos, el resultado es la activación completa, que lleva a la división celular y diferenciación en células de memoria o células plasmáticas secretoras de anticuerpo.

La transducción de señales activadoras incluye heterodímeros Ig-α/Ig-β

Durante muchos años, los inmunólogos se preguntaron el modo en que las vías de señalización intracelulares podrían activar la unión del receptor de Ig al antígeno. Todos los isotipos de mIg tienen colas citoplásmicas muy cortas. Tanto mIgM como mIgD en células B se extienden hacia el interior del citoplasma sólo por tres aminoácidos; la cola de mIgA consta de 14 aminoácidos y las colas de mIgG y mIgE contienen 28 aminoácidos. En cada caso, la cola citoplásmica es muy corta para ser capaz de generar una señal y relacionarse con moléculas intracelulares de señalización, como tirosincinasas y proteínas G. Cuando se descubrió que la Ig de membrana se vincula con el heterodímero Ig-α/Ig-β enlazado por uniones disulfuro, formando el **receptor de célula B (BCR)**, se solucionó este acertijo de larga duración. Aunque al principio se pensó que dos heterodímeros Ig-α/Ig-β se relacionaban con una mIg para formar el receptor de la célula B, análisis bioquímicos cuidadosos demostraron que sólo un heterodímero Ig-α/Ig-β se vincula con una molécula de mIg única para formar el complejo receptor (fig. 11-8). Por consiguiente, el BCR se divide de manera funcional en una molécula de inmunoglobulina que une ligando y el heterodímero Ig-α/Ig-β transductor de señales. El pre-BCR se caracteriza por una división funcional similar que transduce señales a través de un complejo que consiste de un heterodímero Ig-α/Ig-β y cadenas pesadas μ, combinadas con la cadena ligera sustituta (fig. 11-4). La cadena Ig-α tiene una cola citoplásmica larga de 61 aminoácidos; la cola de la cadena Ig-β incluye 48 aminoácidos. Las colas citoplásmicas de Ig-α e Ig-β contienen el elemento de 18 residuos denominado **motivo de activación de inmunorreceptor basado en tirosina** (**ITAM**; fig. 11-8), que también se encuentra en varias moléculas del complejo receptor de célula T (fig. 10-11). Las interacciones con las colas citoplásmicas de Ig-α/Ig-β transducen el estímulo producido por el enlace cruzado de moléculas de mIg hacia una señal intracelular eficaz. Este patrón en el que diferentes miembros de un receptor multimérico asumen

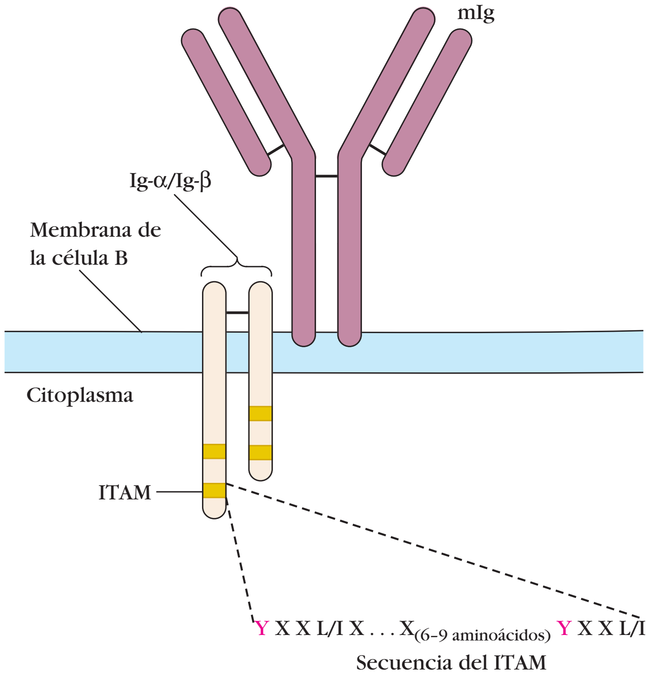

mIg
Ig-α/Ig-β
Membrana de la célula B
Citoplasma
ITAM
Y X X L/I X . . . X(6–9 aminoácidos) Y X X L/I
Secuencia del ITAM

FIGURA 11-8 El receptor de célula B. El BCR consta de una molécula de inmunoglobulina de membrana relacionada con un heterodímero de Ig-α e Ig-β unidas por enlace disulfuro. El antígeno es reconocido por la porción extracelular del complejo, y la transducción de señales es iniciada por las colas citoplásmicas de Ig-α e Ig-β. La fosforilación de tirosinas en los ITAM (motivos de activación de inmunorreceptor basados en tirosina) de Ig-α e Ig-β forma sitios de unión para el ensamblaje de complejos de transducción de señales multimoleculares. El motivo con secuencia altamente conservada de los ITAM se muestra en el código de aminoácidos de una sola letra, con las tirosinas (Y) en rojo; L/I indica que hay leucina o isoleucina en esa posición, y X indica cualquier aminoácido.

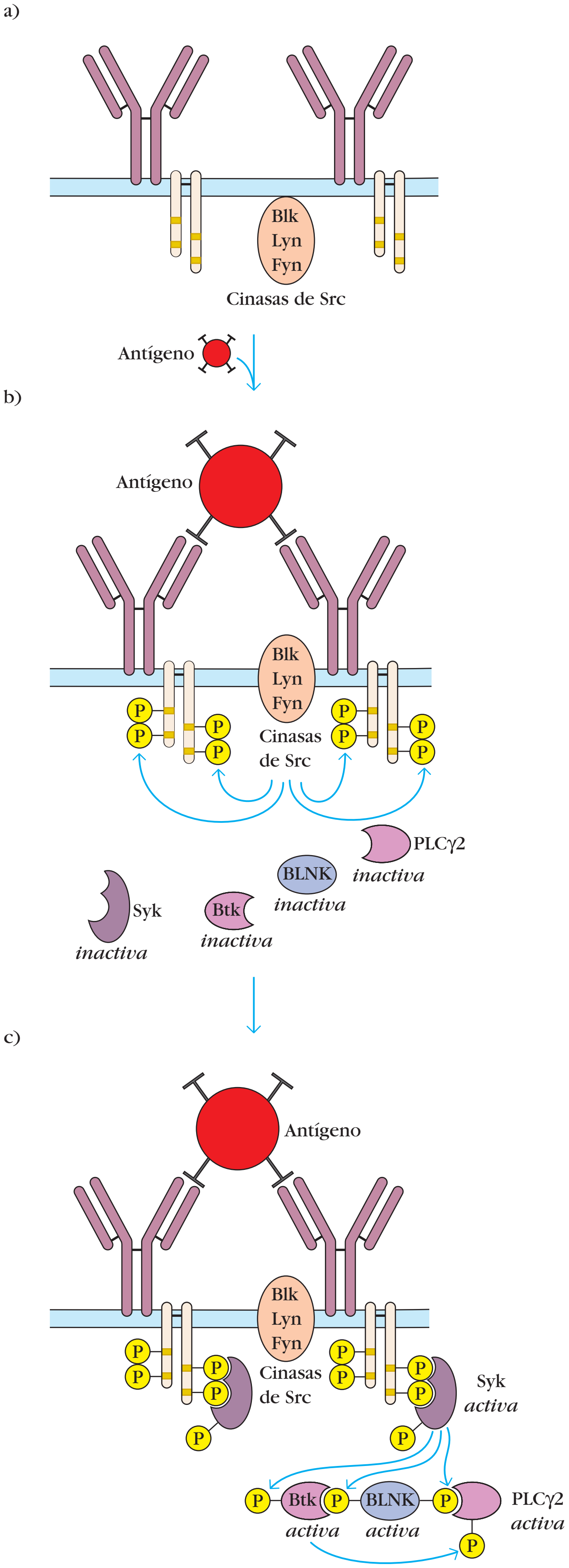

a)
Blk
Lyn
Fyn
Cinasas de Src
Antígeno
b)
Antígeno
P
Blk
Lyn
Fyn
Cinasas de Src
PLCγ2 inactiva
BLNK inactiva
Syk inactiva
Btk inactiva
c)
Antígeno
Blk
Lyn
Fyn
Cinasas de Src
P
Syk activa
Btk activa
BLNK activa
PLCγ2 activa

FIGURA 11-9 Inicio de las vías de señalización que conducen a la activación de la célula B. a) En las células B en reposo, los componentes necesarios para iniciar la señalización de BCR están inactivos, y el andamiaje de sitios de unión para los elementos del complejo de señalización aún no está ensamblado. b) La formación de enlaces cruzados en que intervienen complejos BCR activa la fosforilación de los ITAM de Ig-α e Ig-β por tirosincinasas de proteína, como las cinasas de Src llamadas Lyn, Blk y Fyn. Estas fosforilaciones crean sitios de unión a los cuales se fija Syk. Ésta experimenta entonces fosforilaciones activadoras. c) La Syk activada fosforila la proteína adaptadora BLNK, creando sitios de unión para PLCγ2 y Btk. La fosforilación de Btk y Syk inicia su actividad de tirosincinasas de proteína, y Btk fosforila y activa PLCγ2, que también se ha unido en BLNK. Abreviaturas: Btk = tirosincinasa de Bruton; PLCγ2 = fosfolipasa Cγ2.

las funciones de unión de ligando y transducción de señales también se observa en receptores para las regiones Fc de clases específicas de Ig (FcϵRI para IgE; FcγRIIA, FcγRIIC, FcγRIIIA para IgG). En estos receptores, y en los BCR y TCR, la unión de ligando y la transducción de señales están funcionalmente compartimentadas: las funciones de unión de ligando de estos complejos (mIg en el caso del BCR) se encuentran en la superficie de la célula y la porción transductora de señales se halla sobre todo o en su totalidad dentro de la célula. Como se observa en el TCR, las tirosincinasas proteicas (PTK) tienen funciones centrales en la señalización desde todos estos receptores. Más aún, al igual que el TCR, el BCR en sí mismo no tiene actividad de PTK; esta actividad se adquiere por el reclutamiento de varias cinasas diferentes en las colas citoplásmicas de la señal.

La señalización de células B es iniciada por la unión de antígeno e induce muchas vías de transducción de señales

La formación de enlaces cruzados de BCR mediada por antígeno inicia procesos de transducción de señales que dan por resultado la activación de células B. Como se muestra en la figura 11-9, la unión de antígeno induce la fosforilación de tirosinas dentro de los ITAM de las cadenas de Ig-α e Ig-β del BCR. La fosforilación de estas cadenas por PTK relacionadas con receptor es uno de los primeros fenómenos en la activación de la célula B y tiene un papel fundamental en la creación de sitios de unión para otras moléculas que son esenciales en las etapas iniciales de la activación de la célula B. Entre dichas moléculas se incluyen la PTK decisiva Syk, y una proteína adaptadora conocida como BLNK (proteína conectora de células B), que proporciona sitios de unión necesarios para que otras proteínas se unan al complejo de señalización. Una vez que la BLNK ha sido fosforilada por Syk, esta proteína adaptadora es fijada por tirosincinasa de Bruton (Btk) y fosfolipasa Cγ2 (PLCγ2). Este paso es esencial para la activación dependiente de fosfolipasa C en la señalización temprana por calcio y el inicio de las vías dependientes de cinasa de proteína C (PKC). Como se muestra en la figura 11-9, la unión de Btk y PLCγ2 con la proteína adaptadora BLNK permite que Btk fosforile la PLCγ2, activándola. Sin embargo, la Btk debe ser fosforilada por Syk antes de poder activar PLCγ2. La unión de Btk a BLNK la acerca lo suficiente a Syk para permitir que esta enzima crítica de células B realice la fosforilación activadora de Btk.

Estos pasos iniciales ponen en marcha una secuencia de procesos que inducen las diversas cascadas de señalización distintas necesarias para activar la célula B. Como se muestra en la figura 11-10, estas cascadas de señalización incluyen vías de proteínas G pequeñas, vías mediadas por calcio y vías mediadas por cinasa de proteína C, incluida la que conduce a la producción del versátil factor de transcripción NF-κB. Todas estas vías también son incorporadas durante la activación de las células T. Entre las muchas similitudes entre la señalización de BCR y de TCR son notables las siguientes:

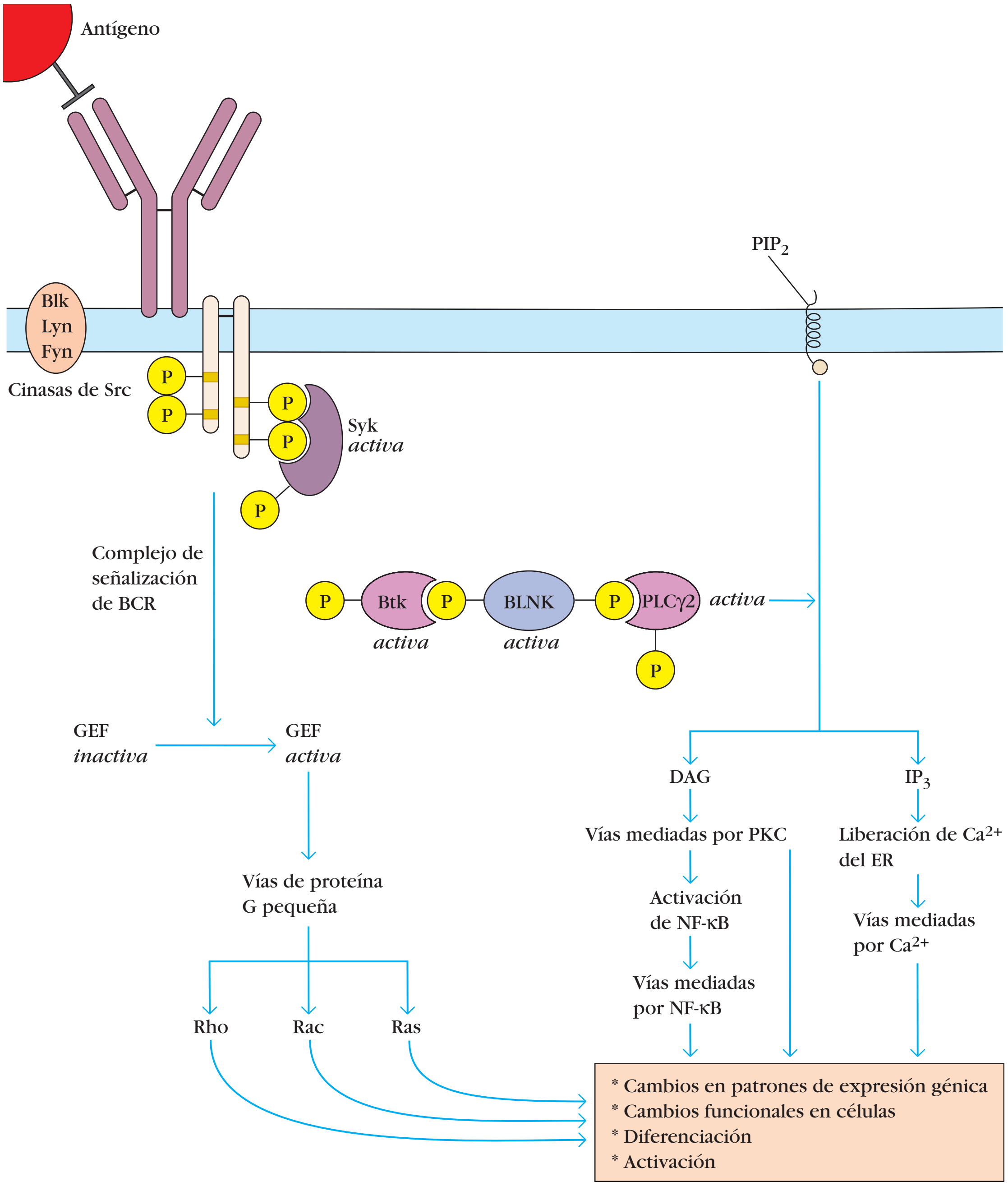
- *Compartimentalización de funciones dentro de subunidades de receptor:* las vías de las células B y T se inician con receptores de antígeno compuestos por una unidad de unión al antígeno y una unidad de señalización. La primera confiere especificidad pero tiene colas citoplásmicas muy cortas para transducir señales al citoplasma de la célula. La segunda posee colas citoplásmicas largas que son las transductoras de señales del complejo receptor.
- *La activación por tirosincinasas de proteína Src relacionadas con membrana:* las PTK relacionadas con receptor ($p56^{Lck}$ en células T y Lyn, Blk, y Fyn en células B) catalizan fosforilaciones durante las etapas tempranas de la transducción de señales que son esenciales para la formación de un complejo funcional de señalización del receptor.
- *Ensamblaje de un complejo de señalización grande con actividad de tirosincinasa de proteína:* las tirosinas fosforiladas en los ITAM de BCR y TCR proporcionan sitios de acoplamiento para las moléculas que dotan a estos receptores de actividad de PTK, ZAP-70 en células T y Syk en células B. Las moléculas adaptadoras, BLNK en células B y LAT y SLP-76 en células T, tienen funciones similares en el establecimiento de un andamiaje para ensamblar elementos esenciales del complejo de señalización.
- *Reclutamiento de otras vías de transducción de señales:* para la activación de las células B y T se requieren las actividades coordinadas de muchas vías de transducción de señales. La activación de estos linfocitos *no* es consecuencia de una sola vía de transducción de señales.
- *Cambios en la expresión génica:* uno de los resultados finales importantes de los procesos de transducción de señales que se ponen en marcha con la inclusión del BCR o el TCR es la generación o transposición al núcleo de factores de transcripción activos que estimulan e inhiben la transcripción de genes específicos.

Los fracasos de la transducción de señales pueden tener consecuencias graves para el sistema inmunitario. El enfoque clínico acerca de la gammaglobulinemia ligada al sexo (más adelante) describe el efecto de la transducción de señales defectuosa en el desarrollo de las células B.

El complejo correceptor de célula B puede intensificar las reacciones de la célula B, y el CD22 es capaz de inhibirlas

Es posible modificar de manera significativa la estimulación a través de receptores de antígeno mediante la señalización por correceptores. Debe recordarse que la coestimulación a través de CD28 es una característica esencial de la estimulación positiva eficaz de linfocitos T, en tanto que la señalización a través de CTLA-4 inhibe la respuesta de la célula T. En las células B, un componente de la membrana llamado **correceptor de célula B** proporciona señales de modificación estimuladoras mientras que otra proteína de membrana, CD22, genera señales inhibitorias. El correceptor de célula B es un complejo de tres proteínas: CD19, CR2 (CD21) y TAPA-1 (CD81) (fig. 11-11). CD19 es el miembro clave de este complejo y tiene una cola citoplásmica larga que aporta sitios de unión para moléculas que amplifican

FIGURA 11-10 PARA VISUALIZACIÓN DE CONCEPTOS: Algunas de las múltiples vías de señales de transducción activadas por el receptor de célula B


Antígeno
Blk
Lyn
Fyn
Cinasas de Src
P
P
P
P
Syk
activa
P
PIP2
Complejo de
señalización
de BCR
P
Btk
P
BLNK
P
PLCγ2
activa
activa
activa
P
GEF
inactiva
GEF
activa
DAG
IP3
Vías mediadas por PKC
Liberación de Ca2+
del ER
Activación
de NF-κB
Vías mediadas
por Ca2+
Vías de proteína
G pequeña
Vías mediadas
por NF-κB
Rho
Rac
Ras
* Cambios en patrones de expresión génica
* Cambios funcionales en células
* Diferenciación
* Activación

Una serie de fosforilaciones iniciada por Blk, Lyn y Fyn lleva a la generación del complejo de señalización de BCR. La proteína adaptadora BLNK facilita la fosforilación de PLCγ_2 formando un complejo que incluye PLCγ_2 y Btk. La activación de PLCγ_2 lleva a la hidrólisis de PIP$_2$, un fosfolípido de membrana, y produce los segundos mensajeros DAG y IP$_3$. DAG y Ca^{2+}, liberados por la acción de IP$_3$, activan de manera colaboradora la cinasa de proteína C (PKC), que induce vías adicionales de transducción de señales incluida una que activa NF-κB. El complejo de receptor activado genera asimismo señales que activan vías de proteínas G pequeñas. El resultado de la activación de estas diversas vías son cambios en los patrones de expresión génica y cambios funcionales en la célula, que conducen a su activación y diferenciación. BLNK = proteína conectora de célula B; Blk, Btk, Lyn, Fyn y Syk son tirosincinasas de proteína; DAG = diacilglicerol; GEF = factores de intercambio de nucleótido de guanina; IP$_3$ = 1,4,5-trifosfato de inositol; PKC = cinasa de proteína C; PLCγ_2 = fosfolipasa Cγ_2; Rho, Rac y Ras son proteínas G pequeñas.

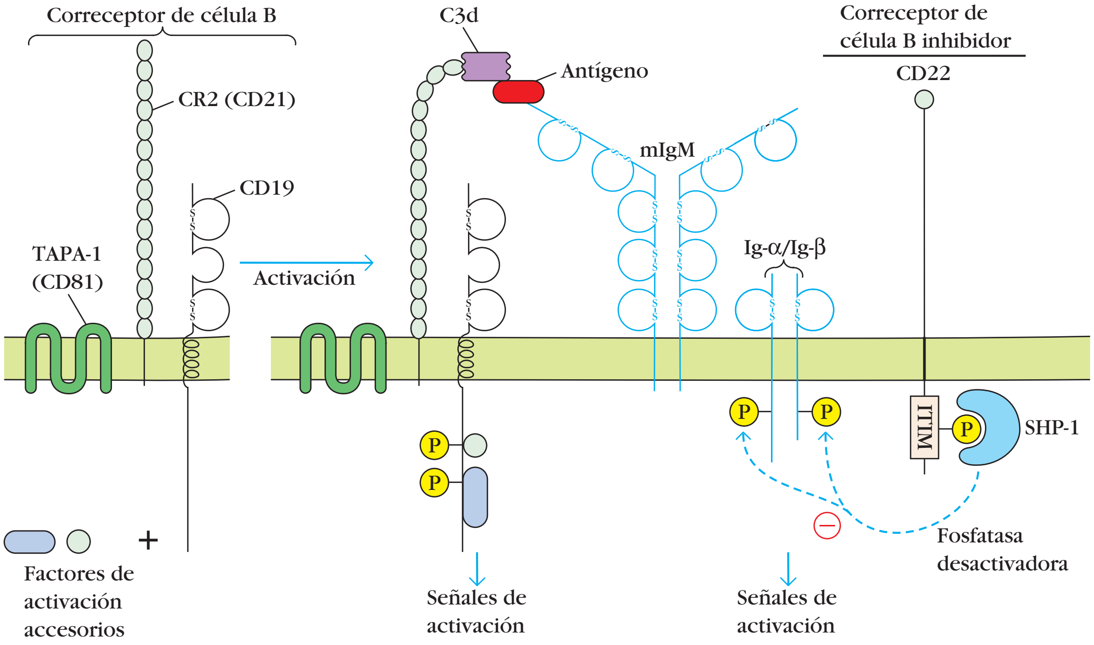


FIGURA 11-11 El correceptor de célula B es un complejo de tres moléculas de membrana celular: TAPA-1 (CD81), CR2 (CD21) y CD19. La fosforilación y unión del componente C19 de este complejo con el BCR genera señales adicionales para la activación de la célula B. Uno de los mecanismos que facilita la unión del complejo correceptor estimulador con el BCR es la unión del componente CR2 al C3d derivado del complemento, que se fija al antígeno capturado por el componente mIg del BCR. CD22 contiene un ITIM (motivo de inhibición de inmunorreceptor basado en tirosina), el cual presenta un sitio de unión para SHP-1, una fosfatasa de tirosina que envía señales negativas al desfosforilar tirosinas del BCR.

señales enviadas por el complejo BCR. El componente CR2 es un receptor de C3d, un producto del catabolismo del sistema del complemento, que constituye un mecanismo efector importante para destruir invasores (cap. 7); cabe señalar que la participación de C3d en la vía para la actividad de correceptor revela la interacción de ramas diferentes del sistema inmunitario. CR2 también actúa como receptor para una molécula de membrana y la proteína transmembranal TAPA-1. Como se muestra en la figura 11-11, el componente CR2 del complejo correceptor se une al antígeno recubierto con complemento capturado por la mIg en células B. Esto enlaza en forma cruzada el correceptor al BCR y permite que el componente CD19 del correceptor interactúe con el componente Ig-α/Ig-β del receptor de célula B (BCR). El factor CD19 contiene seis residuos de tirosina en su cola citoplásmica larga y es un sustrato importante de la actividad de la tirosincinasa de proteína mediada por enlace cruzado del receptor de célula B. La fosforilación de CD19 permite unir varias moléculas de señalización, incluida la tirosincinasa de proteína Lyn.

El aporte de estas moléculas de señalización al complejo de BCR contribuye al proceso de activación, y el complejo correceptor sirve para amplificar la señal activadora que se transmite a través del receptor de célula B. Por ejemplo, en un sistema experimental in vitro fue necesario que el antígeno incluyera 10^4 moléculas de mIgM para que ocurriera la activación de la célula B cuando no participaba el correceptor. Pero cuando se enlazó en forma cruzada el correceptor CD19/CD2/TAPA-1 al BCR, sólo fue necesario incluir 10^2 moléculas de mIgM para activar la célula B. Otro experimento notable destaca la función del correceptor de la célula B. Se inmunizaron ratones con lisozima no modificada o una proteína híbrida en la cual se utilizó ingeniería genética para unir lisozima de huevo de gallina a C3d. La proteína de fusión que llevaba dos o tres copias de C3d produjo respuestas antilisozima que fueron 1 000 a 10 000 veces mayores que las de la lisozima sola. Tal vez fenómenos de correcepción como éstos expliquen por qué las células B vírgenes que expresan con frecuencia mIg con afinidad baja para antígeno son capaces de reaccionar a concentraciones bajas de antígeno en una respuesta primaria. Estas reacciones, aunque al inicio son de afinidad baja, pueden tener una función relevante en la generación final de anticuerpo de alta afinidad. Como se describe más adelante en este capítulo, la respuesta a un antígeno puede conducir a la maduración de la afinidad, cuya consecuencia es una afinidad promedio más alta de la población de células B. Por último, dos observaciones experimentales indicaron que el componente CD19 del correceptor de la célula B puede tener una acción independiente de CR2, el receptor de complemento. Primero, en ratones normales, el enlace cruzado artificial de BCR con anticuerpos anti-CD19 tiene como resultado la estimulación de algunas de las vías de transducción de señales características de la activación de la célula B. Segundo, la activación de células B en ratones con desactivación de CD19 está significativamente reducida, y estos ratones exhiben una respuesta de anticuerpos muy disminuida a la mayoría de los antígenos.

Además del correceptor estimulador CD19 otra molécula, CD22 (que se relaciona constitutivamente con el receptor de célula B en reposo), envía una señal negativa que hace más difícil la activación de células B (fig. 11-11). La activación de

ENFOQUE CLÍNICO

Agammaglobulinemia ligada al sexo: una falla en la transducción de señales y el desarrollo de la célula B

La agammaglobulinemia ligada al sexo (o ligada al cromosoma X) es una enfermedad por inmunodeficiencia determinada de forma genética que se caracteriza por la incapacidad de sintetizar todas las clases de anticuerpo. Fue descubierta en 1952 por O. C. Bruton, en lo que aún se considera un ejemplo sobresaliente de investigación en inmunología clínica. La investigación de Bruton incluyó a un niño pequeño que tuvo en tres ocasiones paperas y presentó 19 episodios diferentes de infecciones bacterianas importantes durante un lapso de apenas cuatro años. Debido a que se aisló la bacteria neumococo de la sangre del niño durante 10 de los episodios de infección bacteriana, se intentó inducir inmunidad a neumococos mediante inmunización con vacuna neumocócica. El fracaso de estos esfuerzos por inducir respuestas de anticuerpo llevó a Bruton a determinar si el paciente podía montar dichas reacciones cuando se le inoculaba con otros antígenos. De manera sorprendente, la inmunización con preparados de vacuna diftérica y de tifoidea no indujo reacciones humorales en este paciente. El análisis electroforético de su suero reveló que aunque existían cantidades normales de albúmina y otras proteínas séricas características no había gammaglobulina, la principal fracción de anticuerpo del suero. Una vez que reconoció que la inmunodeficiencia se debía a una carencia de anticuerpo, Bruton intentó un nuevo tratamiento osado. Administró dosis mensuales de inmunoglobulina sérica humana. El período de 14 meses sin sepsis bacteriana que presentó el paciente estableció la utilidad de la restitución de inmunoglobulina para el tratamiento de la inmunodeficiencia.

Aunque al inicio esta inmunodeficiencia hereditaria se denominó agammaglobulinemia de Bruton, se le cambió el nombre por el de agammaglobulinemia ligada al sexo o X-LA cuando se descubrió que el gen causante se encuentra en el cromosoma X. La enfermedad tiene las características clínicas siguientes:

- Como este defecto está ligado al cromosoma X, casi todos los individuos afectados son varones.
- Los signos de inmunodeficiencia pueden presentarse ya a los nueve meses después del nacimiento, cuando el aporte de anticuerpos maternos adquiridos in utero desciende por abajo de los valores protectores.
- Existe una frecuencia alta de infección por *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae*; en estos pacientes se observan con frecuencia neumonía, sinusitis, meningitis o septicemia bacterianas.
- Aunque la infección por muchos virus no es más grave en estos enfermos que en personas normales, no suele inducirse inmunidad antivírica a largo plazo.
- El análisis mediante microscopia de fluorescencia o por citometría de flujo muestra ausencia parcial o casi total de células B maduras en sangre.

Los estudios de esta enfermedad a nivel celular y molecular proporcionaron información sobre las funciones del sistema inmunitario. Una escasez de células B en la periferia explicó la incapacidad de los pacientes con X-LA para elaborar anticuerpo. Los estudios de las poblaciones celulares en la médula ósea atribuyeron la falta de células B a fracasos en el desarrollo de esta línea celular. Las muestras indicaron una proporción de células pro-B a células pre-B 10 veces la normal, que sugirió una inhibición de la transición de la etapa de célula pro-B a la de célula pre-B. La presencia de muy pocas células B maduras en la médula indicó un bloqueo más intenso en el desarrollo de células B a partir de las células pre-B.

A principios de la década de 1990 se clonó el gen que causa X-LA. El equivalente normal de este gen codifica una tirosincinasa de proteína que se denominó tirosincinasa de Bruton (Btk), en honor del habilidoso y perspicaz médico que descubrió la X-LA y diseñó un tratamiento para ella. Estudios paralelos en ratones demostraron que la ausencia de Btk causa un síndrome que se conoce como xid, una enfermedad por inmunodeficiencia esencialmente idéntica a su equivalente en el ser humano, X-LA. Resultó que Btk tiene acciones importantes en la señalización de la célula B. Por ejemplo, el enlace cruzado del receptor de célula B da por resultado la fosforilación de un residuo de tirosina en el dominio catalítico de Btk. Esto inicia la actividad de tirosincinasa de proteína de Btk, que a continuación fosforila la fosfolipasa $C\gamma_2$ ($PLC\gamma_2$); estudios in vitro de cultivos celulares con desactivación génica de Btk demostraron un trastorno de la activación de $PLC\gamma_2$. Una vez activado, $PLC\gamma_2$ hidroliza fosfolípidos de la membrana y libera los potentes segundos mensajeros IP_3 y DAG. Como se mencionó, IP_3 propicia un aumento de Ca^{2+} intracelular y DAG es un activador de la cinasa de proteína C (PKC). Por ello, Btk tiene un papel central en la activación de una red de señales intracelulares vitales para la función de las células B maduras y los miembros iniciales del linaje de células B. La investigación ha demostrado que pertenece a una familia de PTK que se conocen como cinasas Tec; su equivalente en las células T es Itk. Las informaciones obtenidas de estudios de X-LA, xid y Btk son ejemplos impresionantes de la forma en que el estudio de estados patológicos puede aclarar el funcionamiento de células normales.

células B da por resultado la fosforilación de un motivo inhibidor de inmunorreceptor basado en tirosina (ITIM) en la cola citoplásmica de CD22. Ello permite que una fosfatasa de tirosina se una a los ITIM de CD22 y elimine los fosfatos activadores de las tirosinas de los complejos de señalización en los alrededores. Debe recordarse que la fosforilación de tirosina es una característica clave de la activación de las células B. CD22 desactiva las células B y participa en su regulación negativa. Los niveles de activación de células B son un tanto elevados en los ratones con desactivación de CD22; cuando estos ratones envejecen tienen mayores niveles de autoinmunidad, lo cual revela la importancia de esta regulación negativa.

a) El antígeno enlaza en forma cruzada mIg y genera la señal ①, que conduce a un incremento de la expresión de MHC clase II y B7 coestimulador. El complejo de antígeno y anticuerpo se internaliza por endocitosis mediada por receptor y se degrada en péptidos, algunos de los cuales son unidos por MHC clase II y presentados en la membrana como complejos de péptidos y MHC.

b) La célula T_H reconoce antígeno-MHC clase II en la membrana de la célula B. Esta señal coestimuladora adicional activa las células T_H.

c) 1. La célula T_H comienza a expresar CD40L.
2. La interacción de CD40 y CD40L proporciona la señal ②.
3. Las interacciones B7-CD28 proporcionan coestimulación a la célula T_H.

d) 1. La célula B comienza a expresar receptores para diversas citocinas.
2. La unión de citocinas liberadas de la célula T_H en una forma dirigida envía señales que apoyan la progresión de la célula B a la síntesis de DNA y la diferenciación.

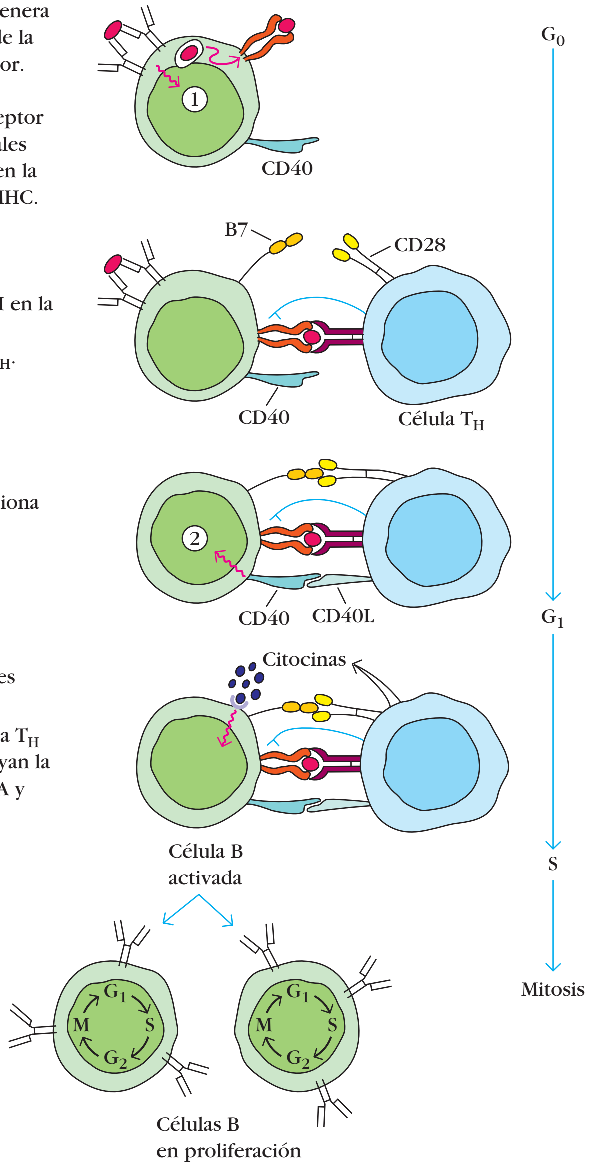


FIGURA 11-12 Secuencia de fenómenos en la activación de la célula B por un antígeno dependiente del timo. En el lado derecho se indica la fase del ciclo celular de la célula B que interactúa.

Las células T_H tienen acciones esenciales en la mayor parte de las reacciones de la célula B

Como ya se comentó, la activación de células B por antígenos proteicos solubles requiere la participación de las células T_H. La unión de antígeno a mIg de células B no induce por sí misma la proliferación y diferenciación a células efectoras sin la interacción adicional con moléculas de membrana en la célula T_H y la presencia de citocinas apropiadas. En la figura 11-12 se delinea la probable secuencia de eventos que ocurren en la activación de la célula B por antígeno dependiente del timo (TD). Se considera que este proceso es más complejo que la activación inducida por antígenos independientes del timo (TI).

Formación de conjugados T-B

Después de la unión de antígeno por mIg en células B, el antígeno se internaliza por endocitosis mediada por receptor y se procesa dentro de la vía endocítica en péptidos. La unión de antígeno también inicia la señalización a través del BCR que induce a la célula B a aumentar varias moléculas de la membrana celular, incluidas moléculas MHC clase II y ligando coestimulador B7 (fig. 11-12a, b). El incremento de la expresión de estas dos proteínas de membrana aumenta la capacidad de la célula B de funcionar como una célula que presenta antígeno en la activación de la célula T_H. Podría considerarse que las células B ayudan a sus colaboradoras porque los péptidos antigénicos que se producen dentro de la vía endocítica de procesamiento se relacionan con moléculas MHC clase II y se presentan en la membrana de la célula B a la célula T_H, lo cual da lugar a su activación. Por lo general se requieren 30 a 60 minutos después de la internalización de antígeno para que se exhiban péptidos antigénicos procesados en la membrana de la célula B vinculados con moléculas MHC clase II.

Debido a que la célula B reconoce e internaliza antígeno de manera específica, por medio de su Ig unida a membrana, una célula B es capaz de presentar antígeno a células T_H a concentra-

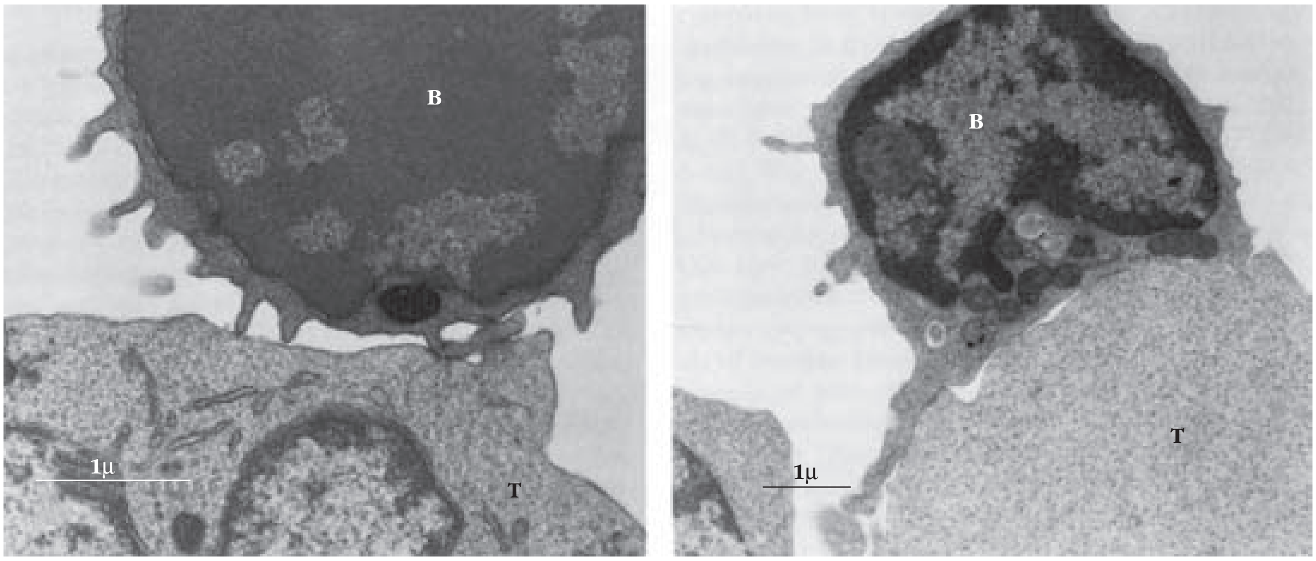


FIGURA 11-13 Micrografías electrónicas de transmisión del contacto inicial entre una célula T y una célula B *(izquierda)* y un conjugado T-B *(derecha)*. Obsérvese el área amplia de contacto de las membranas entre las células después de formarse el conjugado. *[Tomada de V. M. Sanders et al., 1986,* Journal of Immunology ***137****:2395.]*

ciones antigénicas 100 a 10 000 veces más bajas que las necesarias para la presentación por macrófagos o células dendríticas. Cuando las concentraciones de antígeno no son altas, los macrófagos y las células dendríticas son células presentadoras de antígeno eficaces pero, a medida que disminuyen los valores de antígeno, las células B se constituyen en las principales que presentan antígeno a células T_H.

Una vez que una célula T_H reconoce un péptido antigénico procesado exhibido por una molécula MHC clase II en la membrana de una célula B, interactúan las dos células para formar un conjugado T-B (fig. 11-13). Las micrografías de los conjugados T-B revelan que las células T_H en conjugados específicos de antígeno reorganizaron el aparato de Golgi y el centro de organización microtubular hacia la unión con la célula B. Este ajuste estructural facilita la liberación de citocinas hacia la célula B específica de antígeno.

Asistencia dependiente de contacto mediada por la interacción CD40/CD40L

La formación de un conjugado T-B no sólo conduce a la liberación direccional de citocinas de célula T_H sino también al incremento de CD40L (CD154), una proteína de membrana de la célula T_H que, a continuación, interactúa con CD40 en células B a fin de emitir una señal esencial para la activación de la célula B dependiente de la célula T. El CD40 pertenece a la familia del factor de necrosis tumoral (TNF) de proteínas de superficie celular y citocinas solubles que regulan la proliferación celular y la muerte celular programada por apoptosis. El CD40L es un miembro de la familia del receptor de TNF (TNFR). La interacción de CD40L con CD40 en células B lleva una señal (señal 2) a la célula B que, en conjunto con la señal generada por el enlace cruzado de mIg (señal 1), impulsa a la célula B hacia G_1 (fig. 11-12c). Varias vías intracelulares de señalización transducen las señales de CD40 y al final se observan cambios en la expresión génica. Algunos estudios han demostrado que aunque CD40 no tiene actividad de cinasa, su enlace cruzado va seguido de la activación de tirosincinasas proteicas como Lyn y Syk. El enlace cruzado de CD40 por CD40L también provoca la activación de fosfolipasa C y la generación subsecuente de los segundos mensajeros IP_3 y DAG y la activación de varios factores de transcripción. Por último, la formación de enlaces cruzados con CD40 da lugar a su interacción con miembros de la familia del factor vinculado con TNFR (TRAF). Una consecuencia de esta interacción es la activación del factor de transcripción NF-κB.

Varias pruebas identificaron la interacción CD40/CD40L como el mediador de la asistencia dependiente de contacto. El papel de una proteína de membrana de la célula T_H inducible en la activación de la célula B se descubrió por primera vez mediante experimentos en los que se incubaron células B vírgenes con antígeno y se obtuvieron membranas plasmáticas de clonas de célula T_H activadas o en reposo. Sólo las membranas de las células T_H activadas indujeron la proliferación de células B, lo que sugirió que una o más moléculas expresadas en la membrana de una célula T_H activada se unen a receptores en la célula B para proporcionar asistencia dependiente de contacto. Más aún, cuando células B estimuladas por antígeno se tratan con anticuerpos monoclonales anti-CD40 en ausencia de células T_H, se activan y proliferan. Por consiguiente, es crítica la inclusión de CD40, sea por anticuerpos contra CD40 o por CD40L, para proporcionar la señal 2 a la célula B. Si se añaden asimismo citocinas apropiadas a este sistema experimental, entonces las células B en proliferación se diferencian en células plasmáticas. Por el contrario, se ha demostrado que los anticuerpos contra CD40L bloquean la activación de la célula B al inhibir la interacción CD40/CD40L.

Señales proporcionadas por citocinas de célula T_H

Aunque las células B estimuladas por proteínas de membrana de células T_H activadas son capaces de proliferar, no se diferencian a menos que también existan citocinas; este dato sugiere que a fin de inducir la proliferación y diferenciación de las células B se requiere una señal de contacto de membrana y señales por citocinas. La microscopia confocal de conjugados T-B revela que la interacción específica de antígeno entre una célula T_H y una B induce la formación de una sinapsis inmunológica (fig. 10-11) acompañada de una redistribución de proteínas de la membrana de la célula T_H y elementos citoesqueléticos, de lo que resulta la liberación polarizada de citocinas hacia la célula B que interactúa.

Una vez que se activa la célula B, comienza a expresar receptores de membrana para diversas citocinas, como IL-2, IL-4 e IL-5. Estos receptores se unen a continuación a citocinas producidas por la célula T_H que interactúa. Las señales producidas por estas interacciones de citocinas con receptor apoyan la proliferación de las células B y pueden inducir la diferenciación en células plasmáticas y células de memoria, el cambio de clase y la maduración de afinidad. En la siguiente sección se describe cada uno de estos fenómenos.

Es posible la selección negativa de células B autorreactivas maduras en la periferia

Debido a que algunos antígenos propios no tienen acceso a la médula ósea, las células B que expresan mIgM específica para estos antígenos no pueden eliminarse por el proceso de selección negativa que ocurre en la médula ósea, descrito con anterioridad. Con el fin de evitar reacciones autoinmunitarias de estas células B autorreactivas maduras, es necesario que ocurra en el tejido linfoide periférico algún proceso para eliminarlas o tornarlas inactivas.

Un sistema transgénico desarrollado por C. Goodnow y colaboradores ayudó a aclarar el proceso de selección negativa de células B maduras en la periferia. El sistema experimental de Goodnow incluyó dos grupos de ratones transgénicos (fig. 11-14a). Un grupo llevaba un transgén de lisozima de clara de huevo de gallina (HEL) enlazado a un promotor metalotionina, que situó la transcripción del gen de HEL bajo control de los valores de cinc. El otro grupo de ratones transgénicos llevaba transgenes que codifican anticuerpo anti-HEL reordenados de cadenas pesada y ligera de inmunoglobulina; en ratones normales, la frecuencia de células B reactivas a HEL es del orden de 1 en 10^3, pero en estos ratones transgénicos el transgén anti-HEL reordenado lo expresan 60 a 90% de las células B periféricas maduras. Goodnow cruzó los dos grupos de transgénicos para producir descendencia "doblemente transgénica" que llevaba tanto los transgenes de HEL como los de anti-HEL. Goodnow se preguntó a continuación qué efecto tendría la HEL, que se expresa en la periferia pero no en la médula ósea, en el desarrollo de células B que expresan el transgén anti-HEL.

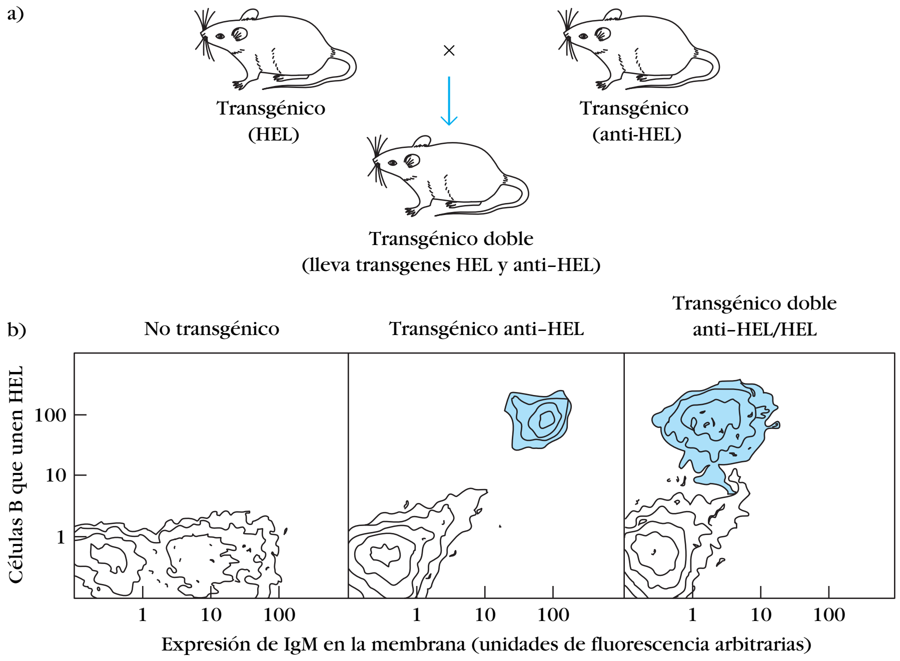


FIGURA 11-14 Sistema experimental de Goodnow para demostrar anergia clonal en células B periféricas maduras. a) Producción de ratones doblemente transgénicos que llevan transgenes que codifican HEL (lisozima de clara de huevo de gallina) y anticuerpo anti-HEL. b) Análisis citométrico de flujo de células B periféricas que unen HEL en comparación con los valores de IgM de membrana. Se midió el número de células B que unen HEL y se determinó la cantidad de células que unieron HEL marcada con fluorescencia. Los valores de IgM en la membrana se determinaron al incubar las células con anticuerpo anti-IgM de ratón marcado con un contexto fluorescente diferente al utilizado para marcar la lisozima de HEL. La medición de la fluorescencia emitida por este marcador indicó la concentración de IgM en la membrana expresada por las células B. Los no transgénicos (*izquierda*) tuvieron muchas células B que expresaron valores altos de IgM de superficie, pero casi ninguna célula B que unió HEL por encima del valor de fondo de 1. Tanto los transgénicos anti-HEL (*parte media*) como los transgénicos dobles anti-HEL/HEL (*derecha*) tuvieron grandes cantidades de células B que unieron HEL (azul), aunque la concentración de IgM de membrana fue alrededor de 20 veces menor en los transgénicos dobles. Los datos en el cuadro 11-3 indican que las células B que expresan anti-HEL en los transgénicos dobles no pueden precipitar una reacción humoral contra HEL.

CUADRO 11-3 Expresión del transgén anti-HEL por células B maduras periféricas en ratones transgénicos simples y dobles

Grupo experimental	Nivel de HEL	Anti-HEL en la membrana	Anti-HEL PFC/bazo*	Anti-HEL título sérico*
Transgénicos simples anti-HEL	Ninguno	+	Alto	Alto
Transgénicos dobles anti-HEL/HEL (grupo 1)	10^{-9} M	+	Bajo	Bajo

*Se inmunizaron animales experimentales con lisozima de clara de huevo de gallina (HEL). Varios días después se llevaron a cabo valoraciones hemolíticas en placa para determinar el número de células plasmáticas que secretaban anticuerpo anti-HEL y se establecieron los títulos séricos de este último. PFC = células formadoras de placa.

FUENTE: Adaptado de C. C. Goodnow, 1992, *Annual Review of Immunology* **10**:489.

Este enfoque ha permitido varios descubrimientos interesantes sobre la selección negativa de células B (cuadro 11-3). Los ratones doblemente transgénicos que expresaban valores altos de HEL (10^{-9} M) tenían aún células B periféricas maduras que portaban anticuerpo de membrana anti-HEL, pero estas células B eran funcionalmente inactivas; es decir, eran *anérgicas*. El análisis por citometría de flujo de células B de ratones sometidos al sistema doblemente transgénico mostró que, si bien existían cantidades grandes de células anti-HEL anérgicas, expresaban IgM en valores alrededor de 20 veces menores que los transgénicos simples anti-HEL (fig. 11-14b). El estudio más amplio demostró que los doblemente transgénicos tenían IgM e IgD de superficie, lo que indicaba que la anergia era inducida en células B maduras más que en inmaduras. Cuando se administró a estos ratones una dosis inmunizante de HEL, se indujeron pocas células plasmáticas anti-HEL y el título sérico de anti-HEL fue bajo.

Con el fin de estudiar lo que sucedería si sólo se expresara en la periferia un antígeno propio de MHC clase I, Nemazee y Burki modificaron el sistema transgénico utilizado en los experimentos sobre selección negativa en la médula ósea ya descritos (fig. 11-6a). Produjeron primero un transgén consistente en el gen clase I K^b enlazado a un promotor específico de hígado, de tal manera que la molécula clase I K^b sólo podía expresarse en el hígado. Se produjeron asimismo ratones transgénicos que expresaban un anticuerpo anti-K^b en sus células B y a continuación se cruzaron los dos grupos de ratones transgénicos (fig. 11-15a). En los ratones doblemente transgénicos resultantes, las células B inmaduras que expresaban mIgM anti-K^b no encontrarían moléculas clase I K^b en la médula ósea. El análisis por citometría de flujo de las células B en los transgénicos dobles demostró que existían células B inmaduras que expresaban células anti-K^b codificadas por el transgén en la médula ósea pero no en los órganos linfoides periféricos (fig. 11-15b). En los experimentos previos de Nemazee y Burki, el antígeno propio de MHC clase I ($H\text{-}2^k$) se expresó en todas las células nucleadas, y las células B inmaduras que expresaban el anticuerpo codificado por transgén contra esta molécula clase I sufrieron selección negativa y su eliminación en la médula ósea (fig. 11-6a). Sin embargo, en el

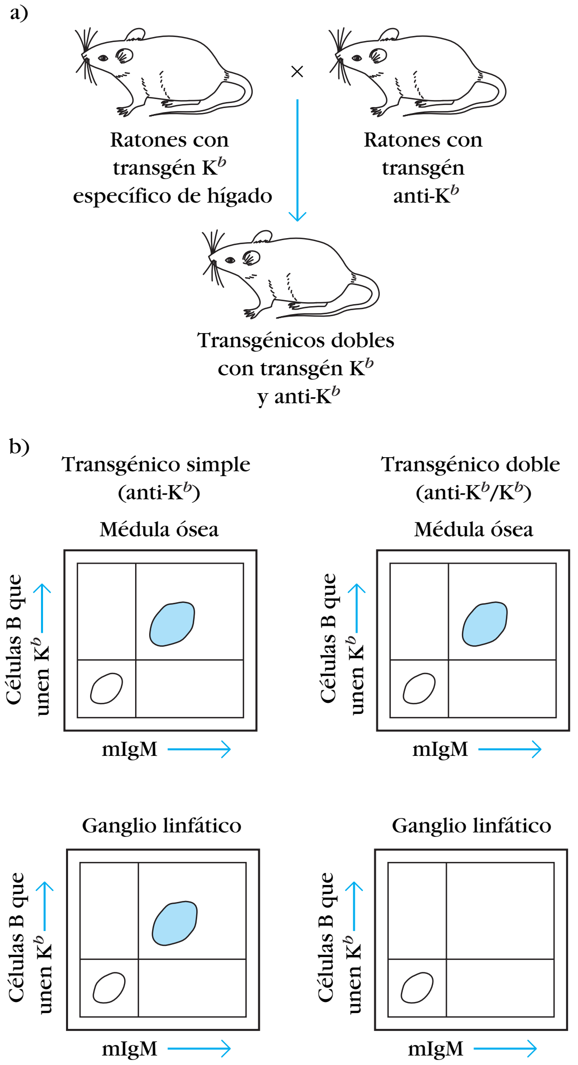

a)
×
Ratones con transgén K^b específico de hígado
Ratones con transgén anti-K^b
Transgénicos dobles con transgén K^b y anti-K^b
b)
Transgénico simple (anti-K^b)
Transgénico doble (anti-K^b/K^b)
Médula ósea
Médula ósea
Células B que unen K^b
mIgM
Ganglio linfático
Ganglio linfático

FIGURA 11-15 Demostración experimental de la deleción clonal de células B periféricas maduras autorreactivas por Nemazee y Burki. a) Producción de ratones doblemente transgénicos que expresan la molécula clase I K^b y anticuerpo anti-K^b. Debido a que el transgén K^b contenía un promotor específico de hígado, no se expresó K^b en la médula ósea de los transgénicos. b) Análisis de citometría de flujo de células B de médula ósea y periféricas (ganglio linfático) para unión de K^b en comparación con IgM de membrana (mIgM). En los transgénicos dobles se encontraron células B que expresaron anti-K^b (azul) en la médula ósea pero no se encontraron en los ganglios linfáticos, lo que indica que se eliminaron en la periferia células B autorreactivas maduras.

segundo sistema, el antígeno propio clase I (K^b) sólo se expresó en el hígado, de tal modo que la selección negativa y la eliminación ocurrieron en la etapa de célula B madura en la periferia.

Reacción humoral

En esta sección se consideran las diferencias entre las respuestas humorales primaria y secundaria y el uso de conjugados de hapteno y portador en el estudio de la reacción humoral.

Las respuestas primaria y secundaria difieren en grado significativo

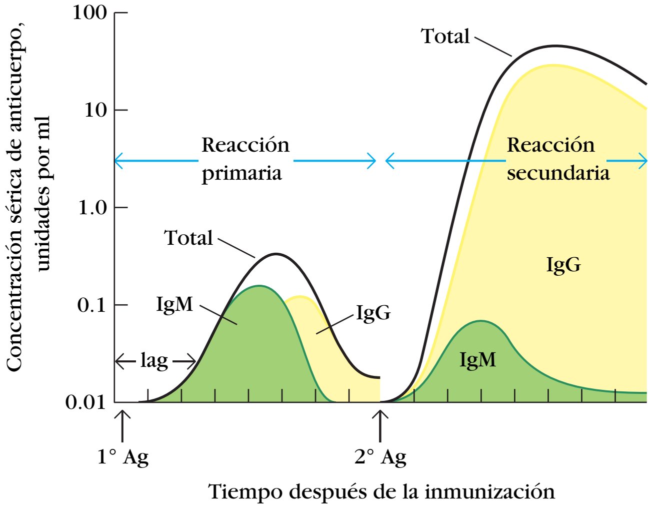
La cinética y otras características de la reacción humoral difieren mucho dependiendo de si ésta resulta de la activación de linfocitos vírgenes (respuesta primaria) o de linfocitos de memoria (respuesta secundaria). En ambos casos, la activación conduce a la producción de anticuerpos secretados de diversos isotipos que difieren en su capacidad de mediar funciones efectoras específicas (cuadro 4-4).

El primer contacto de un antígeno exógeno con un individuo provoca una reacción humoral primaria, que se caracteriza por la producción de células plasmáticas que secretan anticuerpo y células B de memoria. La cinética de la respuesta primaria, medida por la concentración sérica de anticuerpo, depende de la naturaleza del antígeno, la vía de administración del antígeno, la presencia o ausencia de coadyuvantes y la especie o cepa inmunizada.

Sin embargo, en todos los casos una reacción primaria a antígeno se caracteriza por una fase de retraso, durante la cual las células B vírgenes experimentan selección clonal, expansión clonal subsecuente y diferenciación en células de memoria o plasmáticas (fig. 11-16). La fase de retraso va seguida de un incremento logarítmico de la concentración sérica de anticuerpo, que alcanza un máximo, continúa en una meseta por un tiempo variable y a continuación declina. La duración de esta fase de retraso varía con la naturaleza del antígeno. La inmunización de ratones con un antígeno como glóbulos rojos de oveja (SRBC, del inglés *sheep red blood cells*) suele dar por resultado una fase de retraso de cuatro a cinco días antes de que el anticuerpo se detecte de manera confiable en el suero, y las concentraciones máximas de anticuerpo en suero se alcanzan hacia los días siete a 10. Con antígenos proteicos solubles la fase de retraso es un poco más prolongada, con frecuencia alrededor de una semana, y los valores máximos de células plasmáticas no se observan sino hasta alrededor de los 14 días. Durante una reacción humoral primaria inicialmente se secreta IgM, seguida con frecuencia de un cambio a una proporción creciente de IgG.

Las células B de memoria que se forman durante una respuesta primaria dejan de dividirse e ingresan en la fase G_0 del ciclo celular. Estas células tienen lapsos de vida variables y algunas persisten durante toda la vida del individuo. La capacidad de desarrollar una reacción humoral secundaria (fig. 11-14) depende de la existencia de esta población de células B de memo-

FIGURA 11-16 PARA VISUALIZACIÓN DE CONCEPTOS: Concentración e isotipo de anticuerpo sérico después de la inmunización primaria (1°) y secundaria (2°) con antígeno



Se grafican las concentraciones de anticuerpo en una escala logarítmica. No se especifican las unidades de tiempo porque la cinética difiere un poco con el tipo de antígeno, la vía de administración, la presencia o ausencia de coadyuvante y la especie o cepa de animal.

CUADRO 11-4 Comparación de las reacciones de anticuerpos primaria y secundaria

Propiedad	Reacción primaria	Reacción secundaria
Célula B que reacciona	Célula B virgen	Célula B de memoria
Período de atraso después de administrar antígeno	Por lo general 4-7 días	Por lo general 1-3 días
Tiempo para la reacción máxima	7-10 días	3-5 días
Magnitud de la reacción máxima de anticuerpo	Varía según sea el antígeno	Por lo regular 100 a 1 000 veces más alta que la reacción primaria
Isotipo producido	Predomina IgM pronto en la reacción	Predomina IgG
Antígenos	Dependiente e independiente del timo	Dependiente del timo
Afinidad de anticuerpo	Más baja	Más alta

ria y asimismo de células T de memoria. La activación de células de memoria por antígeno da lugar a una respuesta de anticuerpo secundaria que puede diferenciarse de la reacción primaria en varias formas (cuadro 11-4). La respuesta secundaria tiene un período de retraso más corto, su magnitud es mayor y dura más tiempo. La reacción secundaria también se caracteriza por la secreción de anticuerpo con afinidad más alta por el antígeno, y en ella predominan isotipos diferentes a la inmunoglobulina M (IgM).

Un factor importante en el inicio más rápido y la magnitud mayor de las respuestas secundarias es el hecho de que la población de células B de memoria específicas para un antígeno determinado es considerablemente mayor que la población de células B vírgenes correspondiente. Más aún, las células de memoria se activan con mayor facilidad que las células B vírgenes. Los procesos de maduración de afinidad y el cambio de clase originan la afinidad más alta y los diferentes isotipos que se exhiben en una respuesta secundaria. Las concentraciones mayores de anticuerpo aunadas a la afinidad total más alta proporcionan una defensa del hospedador eficaz contra una nueva infección. El cambio de isotipo suministra anticuerpos cuyas funciones efectoras son en especial adecuadas para un patógeno determinado.

La existencia de células B de memoria de vida prolongada explica un fenómeno llamado “pecado antigénico original”, que se observó por primera vez cuando se vigiló en adultos la reacción de anticuerpo a vacunas para la gripe. La vigilancia reveló que la inmunización con vacuna de la gripe de una cepa indujo una reacción de anticuerpo a esa cepa pero, de manera paradójica, también precipitó una respuesta de anticuerpo de mayor magnitud a otra cepa de gripe a la cual se había expuesto el individuo durante la niñez. Era como si la memoria de la primera exposición al antígeno dejara una impresión para toda la vida en el sistema inmunitario. Este fenómeno puede explicarse por la presencia de una población de células de memoria inducida por la cepa de gripe encontrada en la niñez, que se activa por efecto de epítopos de reacción cruzada en la cepa de vacuna que se encontró después. Este proceso genera a continuación una respuesta secundaria caracterizada por anticuerpos con afinidad más alta por la cepa vírica inicial.

Las células T colaboradoras tienen un papel crítico en la reacción humoral a conjugados de hapteno y portador

Cuando se inmuniza a animales con compuestos orgánicos pequeños (haptenos) conjugados con proteínas grandes (portadores), el conjugado induce una respuesta inmunitaria humoral que consiste en anticuerpos contra epítopos del hapteno y epítopos no alterados en la proteína portadora. Los conjugados de hapteno y portador proporcionaron a los inmunólogos un sistema ideal para estudiar interacciones celulares de la reacción humoral, y estos estudios demostraron que la generación de una respuesta humoral de anticuerpo requiere el reconocimiento del antígeno por células T_H y B, que reconocen cada una diferentes epítopos en el mismo antígeno. En la investigación inmunológica se utilizan diferentes conjugados de hapteno y portador (cuadro 11-5).

Una de las primeras observaciones realizadas en los estudios con conjugados de hapteno y portador fue que a fin de inducir una reacción humoral al hapteno era necesario acoplar el hap-

CUADRO 11-5 Conjugados de hapteno y portador comunes utilizados en investigación inmunitaria

Abreviatura de hapteno y portador	Hapteno	Proteína portadora
DNP-BGG	Dinitrofenol	Gammaglobulina bovina
TNP-BSA	Trinitrofenilo	Albúmina sérica bovina
NIP-KLH	Ácido 5-nitrofenil-acético	Hemocianina de lapa
ARS-OVA	Azofenilarsonato	Ovalbúmina
LAC-HGG	Fenilactósido	Gammaglobulina humana

teno de forma química a una molécula portadora más grande. Si se inmunizaba al animal con el hapteno y el portador por separado, se generaba poco o nada de anticuerpo específico de hapteno. Una segunda observación importante fue que para provocar una reacción de anticuerpo secundaria a un hapteno era necesario inmunizar de nueva cuenta al animal con el mismo conjugado de hapteno y portador empleado para la inmunización primaria. Si la inmunización secundaria se efectuaba con el mismo hapteno, pero conjugado a un portador diferente no relacionado, no se precipitaba una respuesta antihapteno secundaria. Este fenómeno, llamado **efecto de portador**, podía evitarse si se cebaba al animal por separado con el portador no relacionado.

Experimentos similares llevados a cabo con un sistema de transferencia de células demostró que las células inmunizadas contra el hapteno y las células inmunizadas contra el portador eran poblaciones diferentes. En estos estudios se cebó a un ratón con el conjugado DNP-BSA y otro con el portador no relacionado gammaglobulina bovina (BGG), que no estaba conjugado al hapteno. En un experimento se mezclaron células esplénicas de ambos ratones y se inyectaron en un receptor singénico radiado a dosis letales. Cuando se inoculó a este ratón con DNP conjugado al portador no relacionado BGG, se advirtió una respuesta antihapteno secundaria al DNP (fig. 11-17a). En un segundo experimento, células esplénicas de ratones inmunizados con BGG se trataron con antisuero anticélulas T (anti-Thy-1) y complemento para lisar las células T. Cuando esta muestra sin células T se mezcló con células esplénicas preparadas con DNP-BSA y se inyectó en un ratón radiado, no se observó una respuesta antihapteno secundaria al inmunizarlo con DNP-BGG (fig. 11-17b). Sin embargo, cuando las células esplénicas cebadas con DNP-BSA se sometieron a un tratamiento similar con anti-Thy-1 y complemento no se suprimió la reacción antihapteno secundaria a DNP-BGG (fig. 11-17c). Experimentos ulteriores en los que se usaron antisueros para eliminar de manera específica células T CD4$^+$ o CD8$^+$ demostraron que la subpoblación de células T CD4$^+$ fue la que originó el efecto de portador. Estos experimentos demostraron que la respuesta de células B cebadas con hapteno al conjugado de hapteno y portador requiere la presencia de células T$_H$ CD4$^+$ cebadas con portador específicas para epítopos de portador. Debe recordarse que la respuesta de la célula B no se limita al determinante hapteno; de hecho, algunas células B reaccionan a epítopos en el portador. Sin embargo, la valoración puede llevarse a cabo de tal manera que sólo se reconozcan respuestas antihapteno.

Los experimentos con conjugados de hapteno y portador revelaron que a fin de que ocurra la activación de la célula B, tanto las células T$_H$ como las células B deben reconocer determinantes antigénicos en la misma molécula. Esta característica de interacción de células T y B en la respuesta humoral se conoce como reconocimiento asociativo o ligado. Las conclusiones obtenidas de experimentos de hapteno y portador se aplican a la reacción humoral a antígenos en general y apoyan la necesidad de la ayuda de la célula T en la activación de la célula B descrita al inicio de este capítulo.

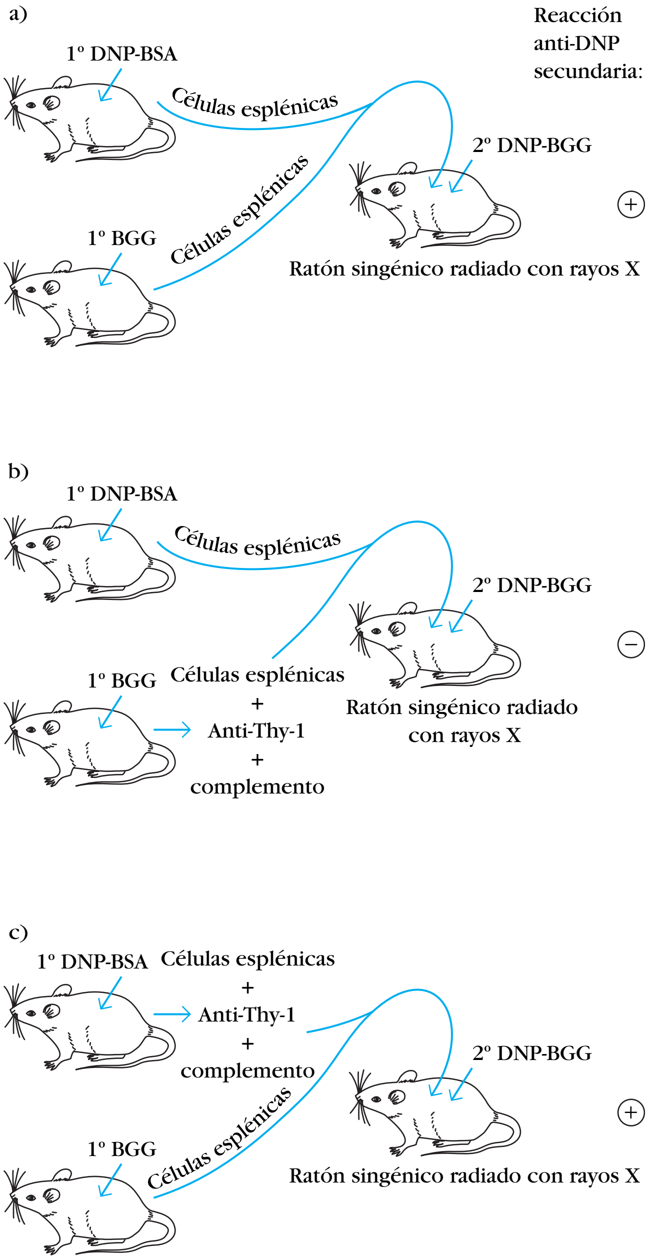


FIGURA 11-17 Experimentos de transferencia celular que demuestran que las células cebadas con hapteno y con portador son poblaciones separadas. a) Los ratones singénicos radiados con rayos X y reconstituidos con células esplénicas de ratones inmunizados con DNP-BSA y con BGG e inoculados con DNP-BGG generaron una respuesta anti-DNP secundaria. b) La separación de las células T de las células esplénicas cebadas con BGG, mediante tratamiento con antisuero anti-Thy-1, suprimió la respuesta anti-DNP secundaria. c) La separación de las células T de las células esplénicas cebadas con DNP-BSA no tuvo efecto en la reacción secundaria a DNP. Estos experimentos demuestran que las células cebadas con portador son células T y las células cebadas con hapteno son células B.

Sitios in vivo para la inducción de reacciones humorales

La activación y diferenciación in vivo de células B ocurre en sitios anatómicos definidos cuya estructura coloca ciertas restricciones en los tipos de interacciones celulares que pueden llevarse a cabo. Cuando se introduce un antígeno en el cuerpo, se concentra en varios órganos linfoides periféricos. El bazo filtra antígeno de origen sanguíneo, en tanto los ganglios linfáticos regionales o nódulos linfoides filtran antígeno procedente de espacios tisulares drenados por el sistema linfático. La descripción siguiente se refiere a la generación de la respuesta humoral en ganglios linfáticos.

Un ganglio linfático es un filtro en extremo eficiente, capaz de atrapar más de 90% de cualquier antígeno que llega a él por los linfáticos aferentes. El antígeno o los complejos de antígeno y anticuerpo penetran en los ganglios linfáticos solos o unidos a células transportadoras de antígeno (p. ej., células de Langerhans o células dendríticas) y macrófagos. A medida que el antígeno avanza a través de la arquitectura celular de un ganglio encuentra uno de tres tipos de células que presentan antígeno: células dendríticas en la paracorteza, macrófagos dispersos en la totalidad del ganglio o células dendríticas foliculares especializadas en los folículos y centros germinales. El contacto antigénico que conduce a una reacción inmunitaria humoral incluye una serie compleja de fenómenos que ocurren en microambientes precisos dentro de un ganglio linfático (fig. 11-18). Durante las respuestas primaria y secundaria pueden operar vías un poco diferentes, porque en una reacción secundaria gran parte del antígeno tisular se encuentra en complejo con un anticuerpo circulante.

El desarrollo de la microscopia intravital (véase la microscopia bifotónica en el cap. 22) ha hecho posible observar células vivas en tiempo real en el interior de tejidos vivos. En fechas recientes, los investigadores han usado esta técnica para estudiar las interacciones de células T y B dentro de los ganglios linfáticos. Inyectaron células T y B marcadas con fluorescencia de ratones inmunizados con lisozima de clara de huevo de gallina (HEL) a ratones no inmunizados. Luego inmunizaron a estos receptores con HEL, y la respuesta de las células T y B marcadas al antígeno y entre sí se filmaron dentro del ganglio linfático. Observaciones realizadas 30 h después de la inmunización mostraron células T y B que se aproximaban una a otra e interactuaban para formar conjugados (fig. 11-19). Estos conjugados se formaron con rapidez (<1 min) y duraban de 10 min a 1 h o más. En contraste, el tiempo de vida de los conjugados entre células T y B marcadas de animales no inmunizados fue mucho menor (<10 min). Se observó que las células T y B específicas de antígeno migraban a través de sus respectivas zonas del ganglio linfático (las células B por la corteza, rica en dichos linfocitos, y las células T por la paracorteza, enriquecida en éstas) hasta llegar a la frontera entre ambas regiones, donde interactuaban entre sí para formar conjugados T-B.

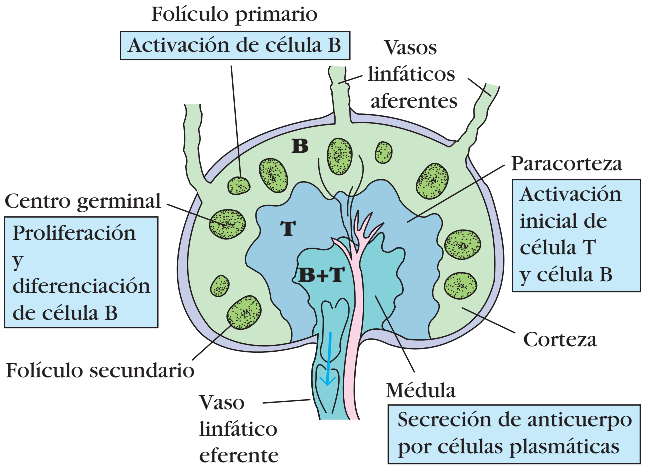

Folículo primario
Activación de célula B
Vasos linfáticos aferentes
B
Paracorteza
Activación inicial de célula T y célula B
Centro germinal
Proliferación y diferenciación de célula B
T
B+T
Corteza
Folículo secundario
Vaso linfático eferente
Médula
Secreción de anticuerpo por células plasmáticas

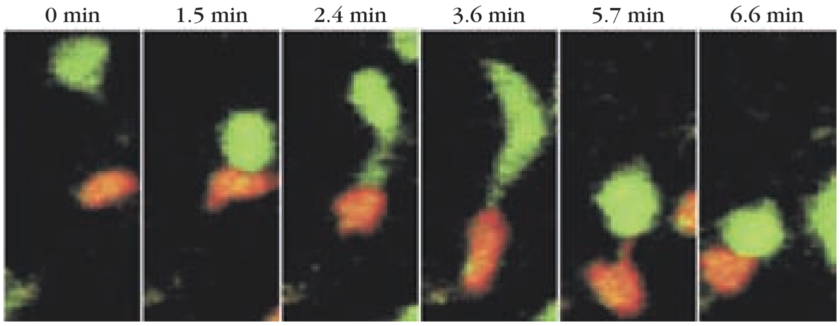
FIGURA 11-18 Diagrama de un ganglio linfático periférico que muestra sitios anatómicos en los cuales ocurren las diversas etapas de activación, proliferación y diferenciación de células B. La corteza es abundante en células B y la paracorteza en células T; en la médula se encuentran grandes cantidades de células B y T. Un folículo secundario contiene el manto folicular y un centro germinal.

Una vez que se realiza la activación de la célula B mediada por antígeno, se forman focos pequeños de células B en proliferación en los bordes de la zona rica en células T. Estas células B se diferencian en células plasmáticas que secretan isotipos de IgM e IgG. Casi todo el anticuerpo que se produce durante una respuesta primaria proviene de células plasmáticas en estos focos. (Ocurre una secuencia similar de fenómenos en el bazo, en donde se verifica la activación de las células B en la vaina linfática periarterial rica en células T, PALS; fig. 2-17.)

Unos cuantos días después de la formación de focos dentro de los ganglios linfáticos, a algunas células B activadas junto con unas pocas células T_H se las impele a migrar de los focos a los folículos primarios. Estos folículos se transforman a continuación en folículos secundarios, que proporcionan un microambiente especializado favorable para interacciones entre células B, células T_H activadas y células dendríticas foliculares. Aunque estas últimas comparten la morfología muy ramificada de las células dendríticas derivadas de la médula ósea, no se originan en esta última, no expresan moléculas MHC clase II y no presentan antígeno a células T CD4$^+$. Las células dendríticas foliculares tienen extensiones largas en las que se encuentran dispuestos receptores Fc y receptores de complemento. Estos receptores permiten que las células dendríticas foliculares retengan y presenten complejos de antígeno y anticuerpo por períodos prolongados, incluso de meses, en la superficie de la célula. Las células B activadas (junto con algunas células T_H activadas) pueden migrar hacia el centro del folículo secundario y formar un centro germinal.

Centros germinales y diferenciación de la célula B inducida por antígeno

En el transcurso de siete a 10 días tras la exposición inicial a un antígeno dependiente del timo surgen centros germinales. En éstos se efectúan tres fenómenos de diferenciación de la célula B


a) Formación in vivo de conjugado T-B

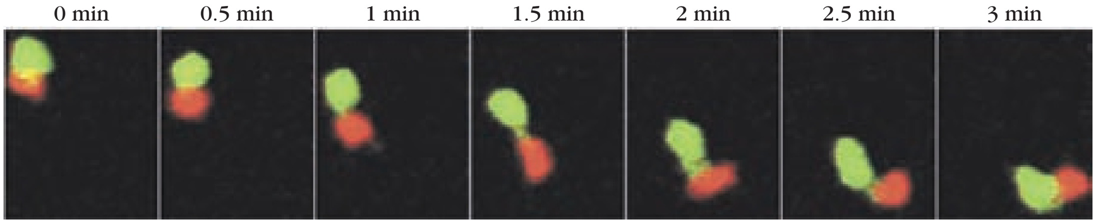

b) Movimiento in vivo de conjugado T-B

FIGURA 11-19 Dinámica in vivo de la interacción entre célula B ocupada por antígeno y célula T colaboradora. a) Se empleó microscopia bifotónica para observar el encuentro in vivo de células T_H (en verde) y células B (en rojo) dentro de un ganglio linfático. En el transcurso de un minuto se forma un conjugado T-B, que permanece intacto por varios minutos después. b) La observación de conjugados T-B vivos dentro de un ganglio linfático revela que no son estáticos, sino móviles. En la mayoría de las observaciones el miembro B del conjugado dirige la migración. *[Tomada de T. Okada et al., 2005,* Public Library of Science Biology ***3:****1047.]*

importantes: maduración de afinidad, cambio de clase y formación de células plasmáticas y células B de memoria. La maduración de afinidad y la formación de células de memoria requieren centros germinales. Sin embargo, ciertos cambios de clase y una cantidad considerable de formación de células plasmáticas ocurren fuera de dichos centros. Durante la primera etapa de la formación del centro germinal las células B activadas llevan a cabo una proliferación intensa. Estas células B en proliferación, que se conocen como centroblastos, aparecen en centros germinales humanos como una **zona oscura** bien definida (fig. 11-20). Los centroblastos se distinguen por su gran tamaño, citoplasma expandido, cromatina difusa y ausencia parcial o total de Ig de superficie. Los centroblastos dan lugar al final a centrocitos, que son células B pequeñas que no se dividen y que ahora expresan Ig de membrana. Los centrocitos pasan de la zona oscura a una región que contiene células dendríticas foliculares llamada **zona clara**, en donde algunos centrocitos hacen contacto con antígeno que se exhibe como un complejo de antígeno y anticuerpo en la superficie de células dendríticas foliculares.

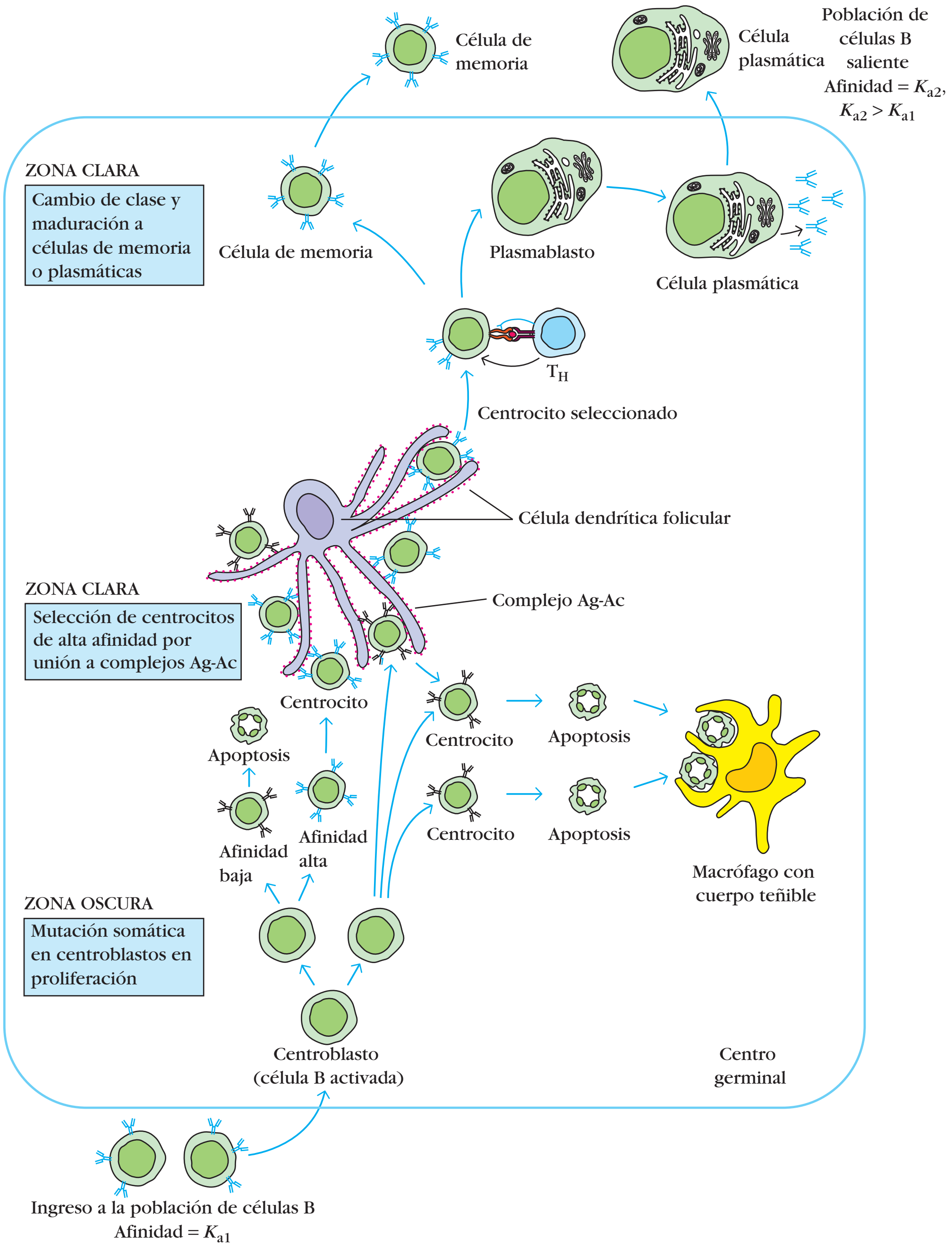
La maduración de la afinidad es el resultado de mutaciones y selecciones repetidas

La afinidad promedio de los anticuerpos elaborados durante el curso de la respuesta humoral aumenta en grado notable durante el proceso de maduración de afinidad (descrito brevemente en el cap. 5), un efecto que observaron por primera vez H. N. Eisen y G. W. Siskind cuando inmunizaron conejos con el complejo de hapteno y portador DNP-BGG. A continuación se midió la afinidad de los anticuerpos anti-DNP séricos producidos en respuesta al antígeno dos, cinco y ocho semanas después de la inmunización. La afinidad promedio de los anticuerpos anti-DNP aumentó alrededor de 140 veces de las dos a las ocho semanas. Trabajos subsecuentes demostraron que la maduración de afinidad resulta sobre todo de la hipermutación somática.

Papel de la hipermutación somática

La vigilancia de los genes de anticuerpo durante una reacción inmunitaria demuestra que la mutación extensa de los genes de Ig que responden a infecciones se realiza en células B dentro de centros germinales. Una demostración directa que compruebe que los centros germinales son los sitios de hipermutación somática procede del trabajo de G. Kelsoe y colaboradores. Estos investigadores compararon las frecuencias de mutación en aislados de células B de centros germinales con las de áreas de activación intensa de células B fuera de los centros germinales. Para ese fin prepararon cortes delgados de tejido esplénico de animales inmunizados con el hapteno 4-hidroxi-3-nitrofenilacetilo (NP) conjugado con gammaglobulina de pollo como portador. Este sistema es conveniente porque la respuesta inicial a este hapteno está dominada por un reordenamiento génico particular de cadena pesada y el uso de una cadena ligera γ (en ratones, >95% de los anticuerpos porta cadenas ligeras κ). En consecuencia, pueden utilizarse anticuerpos contra el idiotipo de este anticuerpo para distinguir con facilidad células B que reaccionan. Mediante anticuerpos contra idiotipo y técnicas de tinción inmunohistológicas, estos científicos identificaron

FIGURA 11-20 PARA VISUALIZACIÓN DE CONCEPTOS: Procesos celulares dentro de centros germinales


Célula de memoria
Célula plasmática
Población de células B saliente
Afinidad = K_{a2},
$K_{a2} > K_{a1}$
ZONA CLARA
Cambio de clase y maduración a células de memoria o plasmáticas
Célula de memoria
Plasmablasto
Célula plasmática
T_H
Centrocito seleccionado
Célula dendrítica folicular
ZONA CLARA
Selección de centrocitos de alta afinidad por unión a complejos Ag-Ac
Complejo Ag-Ac
Centrocito
Centrocito
Apoptosis
Apoptosis
Centrocito
Apoptosis
Afinidad baja
Afinidad alta
Macrófago con cuerpo teñible
ZONA OSCURA
Mutación somática en centroblastos en proliferación
Centroblasto (célula B activada)
Centro germinal
Ingreso a la población de células B
Afinidad = K_{a1}

Las células B estimuladas por antígeno migran hacia centros germinales, en donde reducen la expresión de Ig de superficie y experimentan división celular rápida y mutación de los genes de la región V de la inmunoglobulina reordenados dentro de la zona oscura. Más adelante la división se detiene y las células B migran a la zona clara y aumentan su expresión de Ig de superficie. En esta etapa se denominan centrocitos. Dentro de la zona clara, los centrocitos deben interactuar con células dendríticas foliculares y células T colaboradoras para sobrevivir. Las células dendríticas foliculares unen complejos de antígeno y anticuerpo a lo largo de sus extensiones, y los centrocitos deben competir entre sí para unir antígeno. Es más probable que las células B que llevan inmunoglobulina de membrana de alta afinidad (los anticuerpos se muestran en azul) compitan de modo satisfactorio. Las que fracasan en esta selección mediada por antígeno (los anticuerpos se muestran en negro) mueren por apoptosis. Las células B que pasan la selección de antígeno y reciben una segunda señal de supervivencia de células T_H se diferencian en células B de memoria o células plasmáticas secretoras de anticuerpo. El encuentro con células T_H también puede inducir el cambio de clase. Un resultado final importante del centro germinal es generar células B de afinidad más alta (K_{a2}) a partir de células B de afinidad más baja (K_{a1}).

células B que llevaban anticuerpo anti-NP en centros germinales y focos de centros no germinales de activación de células B que existían en cortes delgados obtenidos de bazos de ratones recién inmunizados. Aislaron estas células B por microdisección, utilizaron PCR para amplificar los genes de inmunoglobulina de cada célula individual y luego clonaron y secuenciaron los genes de inmunoglobulina. Se encontraron muchas mutaciones en los genes de inmunoglobulina obtenidos de células B de centros germinales y pocas en los genes de células B activadas en focos de centros no germinales. Cuando se examinaron las secuencias mutadas de las células B reunidas de centros germinales, fue obvio que muchas de las células tenían secuencias tan similares que era probable que se relacionaran por descendencia común de la misma célula precursora. Análisis detallados de las secuencias permitieron a estos investigadores elaborar árboles genealógicos en los que podía observarse con claridad la progenie descendiente de los progenitores por hipermutación somática progresiva.

La introducción de mutaciones puntuales, deleciones e inserciones en los genes de inmunoglobulina reordenados es notablemente concentrada. En la figura 11-21 se muestra que la abrumadora mayoría de estas mutaciones ocurre en una región que se extiende desde unos 0.5 kb 5′ hasta alrededor de 1.5 kb 3′ de los segmentos V(D)J de genes de inmunoglobulina reordenados. Aunque el proceso de hipermutación proporciona mutaciones en toda la región V, la selección impulsada por antígeno tiene como resultado el surgimiento final de genes de inmunoglobulina en los que la mayor parte de las mutaciones se encuentra dentro de tres regiones determinantes de complementariedad (CDR). Se estima que la frecuencia de mutaciones durante la mutación somática es de alrededor de 10^{-3}/pares de bases/división, o sea un millón de veces mayor que la normal para otros genes de seres humanos o de ratones. Debido a que los segmentos V(D)J de cadenas pesadas y ligeras tienen en total alrededor de 700 pares de bases, este ritmo de mutación significa que por cada dos divisiones celulares que lleva a cabo un centroblasto, sufre una mutación en la región variable de cadenas pesadas o ligeras. Las frecuencias en extremo altas y los blancos precisos de las hipermutaciones somáticas son características notables únicas del sistema inmunitario. La enzima desaminasa de citidina inducida por activación (AID), que se expuso en el capítulo 5, es parte importante de la base molecular de este extraordinario proceso, cuya comprensión completa aún constituye un reto en inmunología, incluidas algunas preguntas acerca del modo en que es dirigida principalmente a las regiones variables de genes de inmunoglobulina reordenados.

Debido a que la mutación somática sucede en forma aleatoria, genera unas cuantas células con receptores de afinidad más alta y muchas células con receptores de la misma afinidad o menor por un antígeno particular. Por consiguiente, es necesaria la selección para generar una población de células con mayor afinidad. El sitio de la selección es el centro germinal. Como se explica más adelante, las células B que tienen receptores de afinidad alta por el antígeno se seleccionan de manera positiva y dejan el centro germinal; es factible que las de afinidad baja sufran selección negativa y mueran en el centro germinal.

Función de la selección

La hipermutación somática de los genes de la región variable de las cadenas pesada y ligera ocurre cuando proliferan los centroblastos en la zona oscura del centro germinal. La selección se efectúa en la zona clara, en la población del centrocito que no está en división. El factor más importante que influye en la selección es la capacidad de las moléculas de Ig en la membrana del centrocito de reconocer y unir al antígeno exhibido por células dendríticas foliculares (FDC). Debido a que la superficie de las FDC está dotada en abundancia de receptores Fc y receptores de complemento, el antígeno en complejo con anticuerpo o el que se unió a fragmentos C3 creados durante la activación del complemento (cap. 7) pueden unirse a las FDC mediante anticuerpo o a través de puentes de C3. Un centrocito cuya Ig de membrana se une y experimenta la formación de enlaces cruzados por efecto de antígeno unido a FDC recibe una señal esencial para su supervivencia. Los que no reciben esta señal mueren. Sin embargo, los centrocitos deben competir por las cantidades pequeñas de antígeno que existen en las FDC.

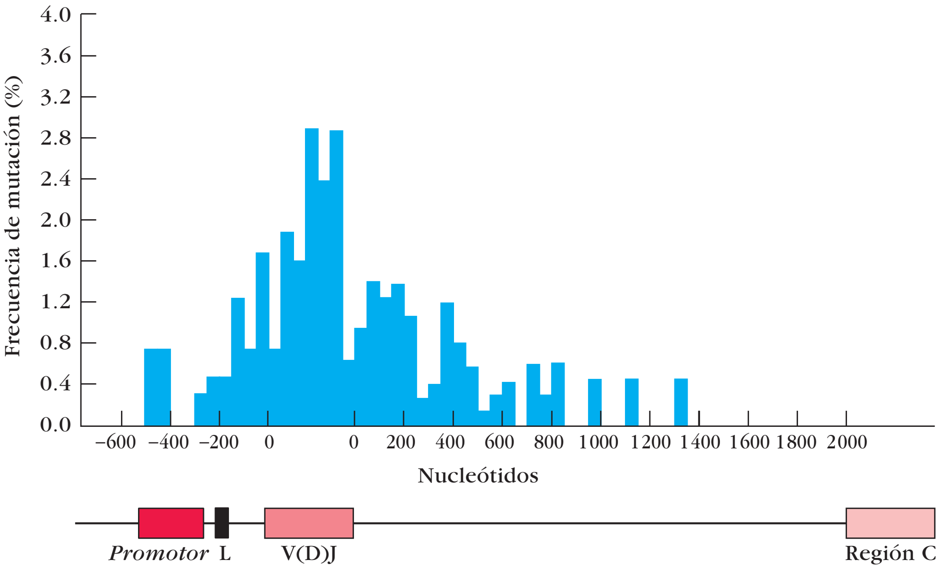


FIGURA 11-21 La frecuencia de hipermutación somática disminuye con la distancia desde el gen V(D)J reordenado. La medición experimental de la frecuencia de mutaciones demuestra que se observan pocas o ninguna mutaciones corriente arriba del promotor del gen reordenado. Las mutaciones no se extienden hacia la porción del gen que codifica la región constante, porque no hay mutaciones en posiciones más alejadas de 1.5 kb 3′ del gen reordenado. *[Adaptada de P. Gearhart, en* Fundamental Immunology, *3rd ed., 1993, Lippincott Williams and Wilkins, Philadelphia, p. 877.]*

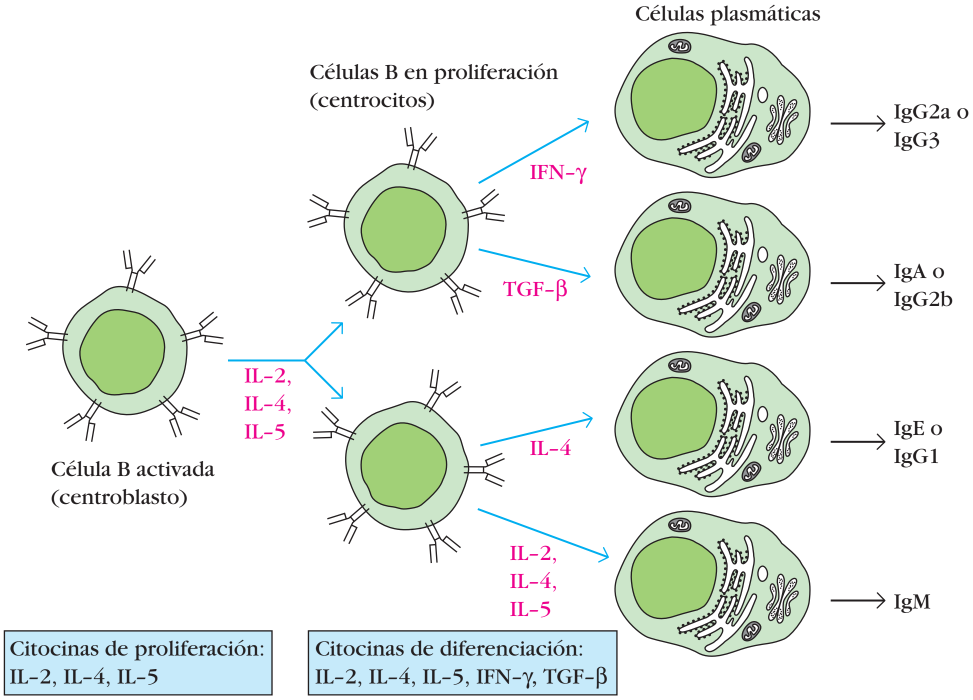


FIGURA 11-22 Las interacciones de múltiples citocinas con células B emiten señales necesarias para la proliferación y el cambio de clase durante la diferenciación de células B en células plasmáticas. La unión de las citocinas de proliferación, que son liberadas por las células T_H activadas, proporciona la señal de progresión necesaria para la proliferación de células B activadas. Las citocinas pueden mediar efectos similares o idénticos además de los que se muestran. El cambio de clase en respuesta a antígenos dependientes del timo requiere asimismo la interacción CD40/CD40L, que no se muestra aquí.

Debido a que la cantidad de antígeno es limitada, es más probable que los centrocitos con receptores de afinidad alta tengan más éxito para unir antígeno que los de afinidad baja (fig. 11-20).

Si bien para la supervivencia del centrocito se requiere antígeno, no es suficiente. Para sobrevivir, un centrocito también debe recibir señales generadas por la interacción con una célula T_H $CD4^+$. Una característica indispensable de esta interacción es la inclusión de CD40 en la célula B (centrocito) por CD40L en la célula T colaboradora. Asimismo, es preciso que el antígeno procesado en moléculas MHC clase II de la célula B interactúe con el TCR de la célula colaboradora T_H. Los centrocitos que no reciben la señal de la célula T_H o de Ig de membrana unida a antígeno experimentan apoptosis en el centro germinal. De hecho, una de las características notables del centro germinal es la muerte celular extensa por apoptosis que se realiza en él. Hay pruebas claras de la presencia de fragmentos de cromatina condensados, que indican apoptosis, en macrófagos con cuerpos teñibles, un tipo raro de macrófago que elimina células de los tejidos linfoides por fagocitosis.

Cambio de clase

Los anticuerpos llevan a cabo dos funciones relevantes: la unión específica a un antígeno, determinada por los dominios V_H y V_L, y la participación en varias funciones efectoras biológicas, que depende del isotipo del dominio constante de la cadena pesada. Como se describe en el capítulo 5, el cambio de clase hace posible que cualquier dominio V_H determinado se una a la región constante de algún isotipo. Eso permite que la especificidad de anticuerpo permanezca constante en tanto varían las actividades efectoras biológicas de la molécula. Varias citocinas influyen en la determinación de la clase de Ig que se selecciona cuando una célula que lleva inmunoglobulina M (IgM) sufre un cambio de clase (fig. 11-22). Como se dijo antes, la reacción humoral a antígenos dependientes del timo se caracteriza por el cambio de clase extenso a otros isotipos diferentes de IgM, mientras que la inmunoglobulina M domina la respuesta de anticuerpo a antígenos independientes del timo. En el caso de los antígenos dependientes del timo, para inducir el cambio de clase es esencial la interacción de membrana entre CD40 en la célula B y CD40L en la célula T_H. La importancia de la interacción CD40/CD40L se ilustra con el **síndrome de hiper-IgM (IgM) ligado al sexo**, un trastorno de inmunodeficiencia en el que las células T_H no expresan CD40L (cap. 20). Los pacientes con este padecimiento producen IgM pero no otros isotipos. Tales enfermos no generan poblaciones de células de memoria, no forman centros germinales y sus anticuerpos no experimentan hipermutación somática.

Las células B de memoria y las células plasmáticas se generan en centros germinales

Una vez que en los centros germinales se seleccionan las células B que llevan mIg de alta afinidad por el antígeno exhibido en células dendríticas foliculares, algunas células B se diferencian en células plasmáticas y otras en células B de memoria (fig. 11-20). Si bien los centros germinales son sitios importantes de generación de células plasmáticas, también se forman en otros

CUADRO 11-6 Comparación de células B vírgenes y de memoria

Propiedad	Célula B virgen	Célula B de memoria
Marcadores de membrana		
Inmunoglobulina	IgM, IgD	IgM, IgD(?), IgG, IgA, IgE
Receptor de complemento	Bajo	Alta
Localización anatómica	Bazo	Médula ósea, ganglio linfático, bazo
Lapso de vida	Breve	Puede ser prolongada
Recirculación	Sí	Sí
Afinidad por receptor	Afinidad promedio más baja	Afinidad promedio más alta debido a maduración de afinidad*
Moléculas de adhesión	ICAM-1 baja	ICAM-1 alta

*La maduración de afinidad resulta de una mutación somática durante la proliferación de centroblastos y la selección subsecuente por antígeno de centrocitos que llevan mIg de alta afinidad.

sitios células que secretan inmunoglobulina (Ig). Las células plasmáticas suelen carecer de inmunoglobulina unida a membrana detectable y en lugar de ello sintetizan valores altos de anticuerpo secretado (hasta 1 000 moléculas de Ig por célula por segundo). La diferenciación de células B maduras en células plasmáticas requiere un cambio en el procesamiento del RNA de tal manera que se sintetice la forma secretada de la cadena ligera en lugar de la de membrana. Además, la tasa de transcripción de los genes de cadenas pesada y ligera es significativamente mayor en células plasmáticas que en células B menos diferenciadas. Varios autores han sugerido que el incremento de la transcripción por células plasmáticas podría ser explicado por la síntesis de valores más altos de factores de transcripción que se unen a intensificadores de inmunoglobulina. Ciertos mecanismos también deben coordinar el aumento de la transcripción de genes de cadenas pesada y ligera, aunque estos genes se encuentran en diferentes cromosomas.

Como se comentó, las células B que sobreviven a la selección en la zona clara de los centros germinales también se diferencian en células de memoria. En el cuadro 11-6 se resumen algunas propiedades de las células B vírgenes y de memoria. Excepto por las inmunoglobulinas unidas a la membrana, se han identificado pocas moléculas de membrana que diferencien las células B vírgenes de las de memoria. Las células B vírgenes sólo expresan IgM e IgD; sin embargo, como una consecuencia del cambio de clase, las células B de memoria expresan isotipos adicionales, incluidas IgG, IgA e IgE.

Regulación de la inmunorreacción efectora

Cuando el sistema inmunitario encuentra un antígeno, puede desarrollar una reacción inmunitaria o entrar en un estado de falta de respuesta llamado tolerancia. El desarrollo de inmunidad o tolerancia, que en ambos casos implica el reconocimiento específico de antígeno por células T o B reactivas a antígeno, debe regularse de manera cuidadosa ya que una respuesta inapropiada —sea por inmunidad a antígenos propios o tolerancia a un posible patógeno— puede tener consecuencias serias, tal vez capaces de poner en peligro la vida.

La regulación de la reacción inmunitaria se realiza tanto en la rama humoral como en la mediada por células. Cada vez que se introduce un antígeno, procesos reguladores importantes determinan la rama del sistema inmunitario que debe activarse, la intensidad de la respuesta y su duración. En el capítulo 12 se describe la importancia de las citocinas en la sincronización de reacciones inmunitarias apropiadas. Además de las citocinas, otros mecanismos reguladores podrían tener funciones inmunorreguladoras de importancia. El conocimiento más amplio de estos fenómenos reguladores, que aún no se comprenden bien, podría permitir la manipulación deliberada de respuestas inmunitarias, lo que aumentaría de manera selectiva reacciones convenientes y disminuiría las indeseables.

Diferentes antígenos pueden competir entre sí

Los antecedentes inmunitarios de un animal influyen en la calidad y cantidad de su reacción inmune. Un animal que no ha tenido contacto previo con un antígeno reacciona a éste de modo muy distinto de como lo hace un animal inmunizado con anterioridad. El encuentro previo con un antígeno pudo tornar al animal tolerante a él o propiciar la formación de células de memoria. En algunos casos, la presencia de un antígeno competidor puede regular la respuesta inmunitaria a un antígeno no relacionado. Esta competencia antigénica se ilustra al inyectar ratones con un antígeno competidor un día o dos antes de la inmunización con un antígeno de prueba. Por ejemplo, la respuesta a eritrocitos de caballo (HRBC, del inglés *horse red blood cells*) se reduce drásticamente en caso de inmunización previa con eritrocitos de oveja (SRBC) y viceversa (cuadro 11-7). Aunque la competencia antigénica es un fenómeno bien establecido, no se comprenden todavía sus bases moleculares y celulares.

La presencia de anticuerpo puede suprimir la reacción al antígeno

Como muchos reactivos bioquímicos, el anticuerpo inhibe su producción por retroalimentación (esto es, ejerce retroinhibición o realimentación negativa). Debido a la supresión mediada

CUADRO 11-7 Competencia antigénica entre eritrocitos de oveja (SRBC) y de caballo (HRBC)

ANTÍGENO INMUNIZANTE		PRUEBA DE PLACA HEMOLÍTICA (DÍA 8)	
Ag1 (día 0)	**Ag2 (día 3)**	**Ag de prueba**	**PFC/10^6* células esplénicas**
Ninguno	HRBC	HRBC	205
SRBC	HRBC	HRBC	13
Ninguno	SRBC	SRBC	626
HRBC	SRBC	SRBC	78

*PFC = células formadoras de placa.

por anticuerpo, ciertas vacunas (p. ej., las del sarampión y paperas) no se administran a lactantes antes del año de edad. La concentración de IgG materna, que el feto adquiere por transferencia transplacentaria, permanece alta durante unos seis meses después del nacimiento. Si se inmuniza a un lactante con vacuna de sarampión o paperas cuando aún se encuentra este anticuerpo materno, la respuesta humoral es baja y la producción de células de memoria no es adecuada para conferir inmunidad de larga duración. Si se inmuniza a un animal con un antígeno específico y se le inyecta un anticuerpo preformado contra el mismo antígeno inmediatamente antes o en el transcurso de unos cuantos días tras la inmunización con antígeno, la reacción inmunitaria al antígeno se reduce hasta 100 veces.

Existen dos explicaciones para la supresión mediada por anticuerpo. Una es que el anticuerpo circulante compite con células B reactivas por un antígeno, lo que inhibe la expresión clonal de las células B. La segunda explicación señala que la unión de complejos de antígeno y anticuerpo por receptores Fc en células B reduce la señalización por el complejo de célula B y receptor.

A medida que prosigue la respuesta de anticuerpo, la retroalimentación por éste inhibe la reacción. En tanto más moléculas de IgG secretada participan en los complejos de antígeno y anticuerpo, las porciones Ig de estos complejos se unen a receptores Fcγ presentes en la membrana de la célula B, y el antígeno del complejo se une a la Ig de los receptores de célula B. Este enlace cruzado acerca los receptores Fcγ a los complejos de receptor de célula B activados y permite que las fosfatasas unidas a las colas citoplásmicas del receptor Fc desfosforilen sitios en el complejo BCR que deben permanecer fosforilados para conservar la activación de la célula B. Como consecuencia, la actividad de la célula B disminuye de manera progresiva a medida que aumenta la IgG unida al antígeno. La prueba de dicha competencia entre anticuerpo administrado de manera pasiva y células B reactivas a antígeno proviene de estudios en los que se requirió más de 10 veces más anticuerpo anti-DNP de afinidad baja que anticuerpo anti-DNP de afinidad alta para inducir una supresión comparable. Más aún, la competencia por antígeno entre el anticuerpo administrado de modo pasivo y células B reactivas a antígeno impulsa la respuesta de la célula B hacia anticuerpos de afinidad más alta. Sólo las células reactivas a antígeno de afinidad alta pueden competir con éxito con el anticuerpo por el antígeno disponible administrado de manera pasiva.

RESUMEN

- Las células B se desarrollan en la médula ósea y experimentan activación y diferenciación inducida por antígeno en la periferia. Las células B activadas pueden dar lugar a células plasmáticas que secretan anticuerpo o células B de memoria.
- Durante el desarrollo de la célula B, el reordenamiento secuencial del gen de Ig transforma una célula pro-B en una célula B inmadura que expresa mIgM con especificidad antigénica única. El desarrollo adicional proporciona células B vírgenes maduras, con una sola especificidad, que expresan tanto mIgM como mIgD.
- Cuando un BCR autorreactivo se expresa en la médula ósea, ocurre selección negativa y las células autorreactivas se eliminan por apoptosis o se someten a edición de receptor para producir una mIg que no reacciona a lo propio. Las células B que reaccionan con antígenos propios que encuentran en la periferia se tornan anérgicas.
- En la periferia, la activación y diferenciación de células B maduras inducidas por antígeno generan una respuesta de anticuerpo. Para la mayoría de los antígenos, esta reacción requiere células T_H; se trata de respuestas dependientes del timo (TD). Las reacciones a algunos antígenos, como ciertos productos de la pared de células bacterianas (p. ej., LPS) y moléculas poliméricas con epítopos repetitivos, no requieren células T_H y son antígenos independientes del timo (TI).
- La activación de la célula B es la consecuencia del proceso de transducción de señales desencadenado por la unión del receptor de célula B, lo que conduce al final a muchos cambios en la célula, incluidos cambios en la expresión de genes específicos.
- La activación de las células B y T comparte muchos aspectos paralelos, que incluyen compartimentación de funciones en subunidades del receptor; activación por tirosincinasa de proteína relacionada con membrana; ensamblaje de complejos de señalización grandes con actividad de tirosincinasa de proteína, e incorporación de varias vías de transducción de señales.
- El correceptor de célula B puede intensificar la señal de activación que resulta del enlace cruzado de inmunoglobulina de membrana (mIg). Esto puede ser en particular importante durante la respuesta primaria a concentraciones bajas de antígeno.
- La molécula relacionada con membrana celular CD22 puede actuar como regulador negativo de la activación de células B. Las tirosinfosfatasas de proteína unidas a los ITIM de la cola citoplásmica de CD22 desactivan los complejos de señalización relacionados con BCR eliminando fosfatos agregados por tirosincinasas de proteína activadoras.
- La activación inducida por antígenos TD requiere ayuda dependiente del contacto proporcionada por la interacción entre CD40 de células B y CD40L en células T_H activadas. La

interacción CD40/CD40L es esencial para la supervivencia de la célula B, la formación de centros germinales, la generación de poblaciones de células de memoria y la hipermutación somática.

- Las propiedades de las reacciones de anticuerpo primaria y secundaria difieren. La respuesta primaria tiene un período de retraso prolongado y la IgM es la primera clase de anticuerpo que se produce, seguida de un cambio gradual a otras clases. La reacción secundaria tiene un tiempo de retraso más corto y dura más. Los principales productos generados son IgG y otros isotipos en lugar de IgM, y la afinidad promedio del anticuerpo producido es más alta.
- En el transcurso de aproximadamente una semana tras la exposición a un antígeno TD se forman centros germinales, sitios de hipermutación somática de genes de inmunoglobulina reordenados. Los centros germinales son los sitios de maduración de afinidad, formación de células B de memoria, cambio de clase y formación de células plasmáticas.
- Las reacciones inmunes humorales pueden ser inhibidas por retroalimentación de anticuerpo, un proceso en el cual la unión de complejos antígeno-anticuerpo a receptores Fcγ en las células B inhibe la señalización de BCR.

Bibliografía

Berek, C. 1999. Affinity maturation. In *Fundamental Immunology,* 4th ed. W. E. Paul, ed. Lippincott-Raven, Philadelphia and New York.

Berland, R., and H. H. Wortis. 2002. Origins and functions of B-1 cells with notes on the role of CD5. *Annual Review of Immunology* **20:**253.

Bromburg, J. S. 2004. The beginnings of T-B collaboration. *Journal of Immunology* **173:**7.

Bruton, O. C. 1952. Agammaglobulinemia. *Pediatrics* **9:**722.

Burrows, P. D., et al. 2004. The development of human B lymphocytes. In *Molecular Biology of B Cells*. T. Honjo, F. W. Alt, and M. Neuberger, eds. Elsevier Academic Press, Amsterdam.

Dal Porto, J. M., et al. 2004. B cell antigen receptor signaling 101. *Molecular Immunology* **41:**599.

Jacob, J., G. Kelsoe, K. Rajewsky, and U. Weiss. 1991. Intraclonal generation of antibody mutants in germinal centres. *Nature* **354:**389.

Manis, J. P., M. Tian, and F. W. Alt. 2002. Mechanism and control of class-switch recombination. *Trends in Immunology* **23:**31.

Matthias, P. and A. G. Rolink, A. G. 2005. Transcriptional networks in developing and mature B cells. *Nature Reviews Immunology* **5:**497.

Matsuuchi, L., and M. R. Gold. 2001. New views of BCR structure and organization. *Current Opinion in Immunology* **13:**270.

Melchers, F., and A. Rolink. 1999. B-lymphocyte development and biology. In *Fundamental Immunology*, 4th ed. W. E. Paul, ed. Lippincott-Raven, Philadelphia and New York.

Meffre, E., R. Casellas, and M. C. Nussenzweig. 2000. Antibody regulation of B-cell development. *Nature Immunology* **1:**379.

Nitschke, L., and D. T. Fearon. 2004. Regulation of antigen receptor signaling by the co-receptors, CD19 and CD22. In *Molecular Biology of B Cells*. T. Honjo, F. W. Alt, and M. Neuberger, eds. Elsevier Academic Press, Amsterdam.

Okada, T., et al. 2005. Antigen-engaged B cells undergo chemotaxis toward the T zone and form motile conjugates with helper T cells. *Public Library of Science Biology* **3:**1047.

Papavasiliou, F. N., and D. G. Schatz. 2002. Somatic hypermutation of immunoglobulin genes: merging mechanisms for genetic diversity. *Cell* **109:**S35.

Sitios útiles de la red

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Omim/
http://www.ncbi.nlm.nih.gov/htbinpost/Omim/getmim

El sitio Online Mendelian Inheritance in Man contiene un subsitio que incluye una lista de más de una docena de diferentes enfermedades hereditarias relacionadas con defectos de la célula B.

http://www.bioscience.org/knockout/knochome.htm

The Frontiers in Bioscience Database of Gene Knockouts presenta información sobre los efectos de las desactivaciones de muchos genes importantes para el desarrollo y la función de las células B.

http://stke.sciencemag.org/

Excelente y amplio producto de *Science*, que abarca vías de transducción de señales. La base de datos incluye artículos, revisiones y protocolos experimentales.

Preguntas de estudio

PREGUNTA DE ENFOQUE CLÍNICO Los pacientes con agammaglobulinemia ligada al sexo están expuestos a infecciones por una amplia variedad de patógenos. Supóngase que existen tres fuentes de inmunoglobulina humana (HuIg) muy purificada para el tratamiento de pacientes con agammaglobulinemia ligada al sexo. La Ig humana de las tres fuentes está libre por igual de agentes que causan enfermedades y es bien tolerada por receptores, pero el número de donadores cuya sangre se reunió para cada fuente difiere en grado notable: 100 individuos para la fuente A, 1 000 para la B y 60 000 para la C. ¿Cuál elegiría y cuál es la base de su elección?

1. Indique si cada una de las afirmaciones siguientes sobre la maduración de la célula B es verdadera o falsa. Si piensa que una afirmación es falsa, explique por qué.

    a. El reordenamiento V_H-D_H-J_H de cadena pesada se inicia en la etapa de célula pre-B.
    b. Las células B inmaduras expresan IgM e IgD en la membrana.
    c. La enzima transferasa de desoxirribonucleotidilo terminal (TdT) es activa en la etapa de célula pre-B.
    d. La cadena ligera sustituta es expresada por células pre-B.
    e. Las células B que reaccionan a lo propio (autorreactivas) pueden rescatarse de la selección negativa por la expresión de una cadena ligera diferente.
    f. A fin de desarrollarse en células B inmaduras, las células pre-B deben interactuar de modo directo con células estromales en la médula ósea.

   g. La mayor parte de las células B que se generan todos los días nunca salen de la médula ósea como células B maduras.

2. El lector dispone de un anticuerpo marcado con fluoresceína (Fl) contra la cadena pesada μ y otro marcado con rodamina (Rh) contra la cadena pesada δ. Describa el patrón de tinción de anticuerpo fluorescente de las siguientes etapas de maduración de las células B, si se supone que puede observar la tinción de membrana y la citoplásmica: a) célula B progenitora (célula pro-B); b) célula B precursora (célula pre-B); c) célula B inmadura; d) célula B madura, y e) célula plasmática antes de ocurrir cualquier cambio de clase.

3. Describa la estructura general y la probable función del complejo célula B-correceptor.

4. En el experimento de Goodnow que demuestra anergia clonal de células B, se compararon dos tipos de ratones transgénicos: transgénicos simples que llevaban un anticuerpo codificado por transgén contra lisozima de clara de huevo de gallina (HEL) y dobles transgénicos que llevaban el transgén anti-HEL y un transgén HEL enlazado al promotor metalotionina activado por cinc.

   a. En los transgénicos simple y doble, 60 a 90% de las células B expresaron anticuerpo anti-HEL unido a la membrana. Explique por qué.
   b. ¿Cómo sería factible demostrar que el anticuerpo de membrana en estas células B es específico para HEL y cómo podría determinarse su isotipo?
   c. ¿Por qué se utilizó el promotor metalotionina para construir el transgén de lisozima de huevo de gallina (HEL)?
   d. Diseñe un experimento para demostrar que las células B, no las células T_H, de los transgénicos dobles eran anérgicas.

5. Discuta el origen de las señales de competencia y progresión necesarias para la activación y proliferación de células B inducidas por a) antígenos proteicos solubles y b) lipopolisacárido bacteriano (LPS).

6. Llene el espacio en blanco en cada afirmación siguiente (a-h) con el (los) término(s) más apropiado(s) de la lista siguiente. Los términos pueden utilizarse más de una vez o ninguna vez.

zona oscura
zona clara
paracorteza
corteza
centroblastos
centrocitos
células dendríticas foliculares
células B de memoria
plasmoblastos
células T_H
médula

   a. La mayoría de los centrocitos muere por apoptosis en la ________.
   b. La activación inicial de células B vírgenes inducida por antígenos dependientes del timo ocurre dentro de la ________ de ganglios linfáticos.
   c. Los _________ son células B que se dividen con rapidez localizadas en la __________ de centros germinales.
   d. Los __________ expresan mIg de alta afinidad e interactúan con antígeno capturado por __________ en la zona clara.
   e. El cambio de clase ocurre en la __________ y requiere el contacto directo entre células B y __________.
   f. Los centrocitos que expresan mIg específica para un antígeno propio que se encuentra en la médula ósea se someten a selección negativa en la _____________.
   g. Dentro de los ganglios linfáticos, las células plasmáticas se encuentran sobre todo en la ___________ de folículos secundarios.
   h. La hipermutación somática, que ocurre en la proliferación __________, es crítica para la maduración de afinidad.

7. La activación y diferenciación de células B en respuesta a antígenos dependientes del timo (TD) requiere células T_H, en tanto que la respuesta de las células B a antígenos independientes del timo (TI) no la requiere.

   a. Comente la diferencia en la estructura de antígenos TD, TI-1 y TI-2 y las características de las respuestas humorales inducidas por ellos.
   b. ¿La unión de qué clase de antígenos a mIg proporciona una señal de competencia eficaz para la activación de la célula B?

8. Las señales de activación de células B deben transducirse al interior de la célula a fin de influir en los procesos del desarrollo. No obstante, las colas citoplásmicas de todos los isotipos de mIg en células B son muy cortas para funcionar en la transducción de señales.

   a. ¿Cómo transducen las células B vírgenes la señal inducida por el enlace cruzado de mIg por antígeno?
   b. Describa el resultado general de la transducción de señales en células B durante la activación y diferenciación inducidas por antígeno.

9. En algunos de sus experimentos, Nemazee y Burki cruzaron ratones que llevaban un transgén que codificaba K^b (una molécula MHC clase I) enlazada a un promotor específico de hígado con ratones que llevaban un transgén que codificaba anticuerpo contra K^b. En los transgénicos dobles resultantes se encontraron células B que unían K^b en la médula ósea pero no en ganglios linfáticos. En contraste, los transgénicos simples anti-K^b tenían células B que unían K^b tanto en la médula ósea como en ganglios linfáticos.

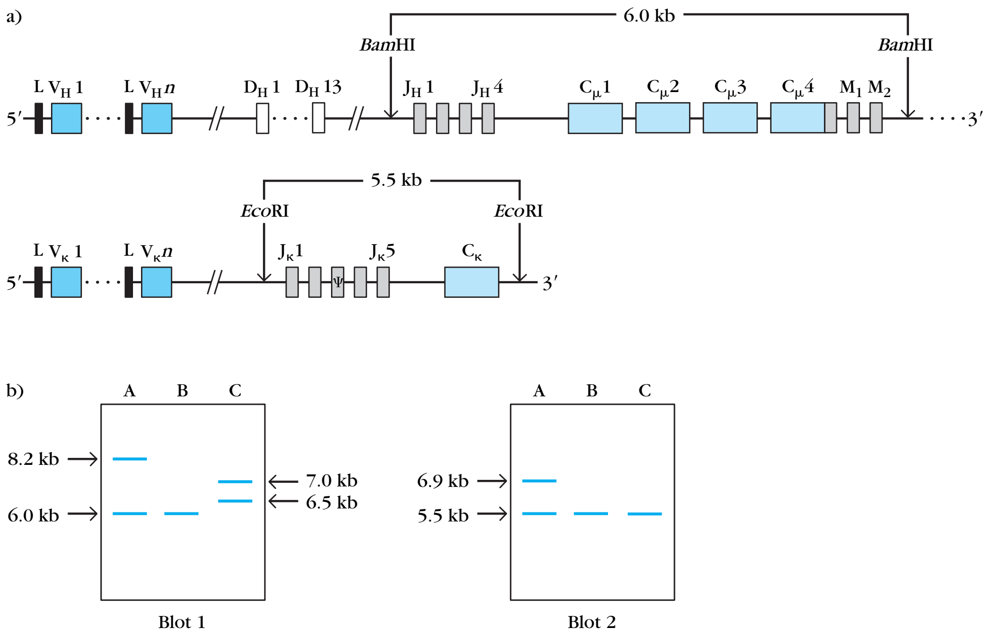
   a. ¿Cuál fue el haplotipo de los ratones que recibieron los transgenes H-2^b o algún otro haplotipo?
   b. ¿Por qué el transgén K^b estaba enlazado a promotor específico de hígado en estos experimentos?
   c. ¿Qué sugieren estos resultados sobre la inducción de tolerancia de las células B a antígenos propios?

10. Indique si cada una de las afirmaciones siguientes es verdadera o falsa. Si piensa que una afirmación es falsa, explique por qué.

   a. Las citocinas pueden determinar qué rama del sistema inmunitario se activa.
   b. La inmunización con un conjugado de hapteno y portador da por resultado la producción de anticuerpos contra epítopos de hapteno y de portador.
   c. Todos los anticuerpos secretados por una célula plasmática individual tienen los mismos idiotipo e isotipo.
   d. Si se inmunizan ratones con HRBC y un día después con SRBC, la respuesta de anticuerpo a los SRBC es mucho más alta que la conseguida en ratones testigos inmunizados sólo con SRBC.

11. Se inmunizaron cuatro ratones con antígeno bajo las condiciones que se mencionan a continuación (a-d). En cada caso, indique si los anticuerpos séricos inducidos tienen afinidad alta o baja y si son en mayor medida IgM o IgG.

   a. Una respuesta primaria a una dosis baja de antígeno.
   b. Una respuesta secundaria a una dosis baja de antígeno.



Para usarse con la pregunta 12

c. Una respuesta primaria a una dosis alta de antígeno.
d. Una respuesta secundaria a una dosis alta de antígeno.

12. Se aisló DNA de tres fuentes: células hepáticas, células pre-B de linfoma y células de mieloma que secretaban IgM. Cada muestra de DNA se digirió por separado con las enzimas de restricción *Bam*HI y *Eco*RI, que escinden DNA de cadenas pesada y ligera κ de la línea germinal como se indica en la parte *a* de la figura adjunta. Las muestras digeridas se analizaron mediante Southern blotting y una sonda $C_{\mu}1$ radiomarcada con los productos de la digestión *Bam*H1 (blot #1) y una sonda C_{κ} radiomarcada con los productos de digestión *Eco*RI (blot #2). En la parte *b* de la figura se ilustran los patrones de manchas (*blot*).

    A partir de esta información, ¿qué muestra de DNA (designada A, B o C) se aisló de a) células hepáticas, b) células pre-B de linfoma y c) células plasmáticas secretoras de IgM? Explique sus asignaciones.

13. Para cada uno de los siguientes enunciados, indique si considera que es verdadero o falso. Si piensa que alguno es falso, explique por qué.

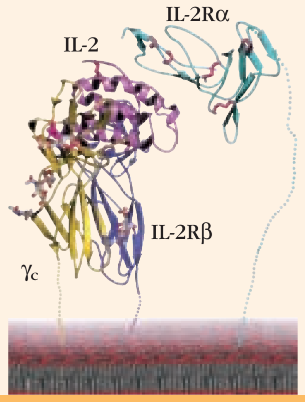
    a. CD21 no es sólo un receptor de complemento, es parte esencial del complejo receptor de célula B.
    b. La transducción de señales a través del complejo BCR da por resultado el transporte de AP-1 al citosol.
    c. Las vacunas de refuerzo son necesarias porque la exposición repetida a un antígeno genera una reacción inmune más intensa.
    d. La IgA se produce contra antígenos TI.
    e. Al madurar, las células B se convierten en células efectoras en el timo.
    f. Después de que una célula plasmática secreta grandes cantidades de anticuerpo y hay presente poco antígeno libre, la célula deja de secretar anticuerpo porque su BCR deja de ser estimulado.
    g. Los antígenos TI-1 son sustancias como el LPS capaces de activar células B de manera inespecífica en altas concentraciones.

14. En cada uno de los siguientes enunciados llene los espacios en blanco con una palabra o frase apropiada.

    a. El síndrome de hiper-IgM ligado al sexo resulta de un defecto en el ligando de CD40 en células T, lo que afecta las células B al bloquear el ____________.
    b. La citocina ______________ induce las células B a experimentar cambio de clase a IgE.
    c. La cadena ligera sustituta del pre-BCR está formada por __________ y ___________.
    d. Las ________________ maduras producen grandes cantidades de IgG soluble.

capítulo 12

Citocinas



Receptor de IL-2 con ligando de IL-2 unido. [Tomada de X. Wang, M. Rickert y K. C. Garcia, 2005, Science 310:1159.]

- Propiedades de las citocinas
- Receptores de citocinas
- Antagonistas de citocinas
- Secreción de citocinas por los subconjuntos T_H1 y T_H2
- Enfermedades relacionadas con citocinas
- Tratamientos basados en citocinas
- Citocinas en la hematopoyesis

EN EL DESARROLLO DE UNA REACCIÓN INMUNITARIA eficaz participan células linfoides, inflamatorias y hematopoyéticas. Un grupo de proteínas, que se designan en conjunto **citocinas** para denotar su papel en la comunicación intercelular (del griego *cito-*, "célula", y *kinein*, "moverse"), media las interacciones complejas entre estas células. Las citocinas son proteínas reguladoras de peso molecular bajo o glucoproteínas secretadas por glóbulos blancos y varias otras células en el cuerpo en respuesta a diversos estímulos. Estas proteínas ayudan a regular el desarrollo de células inmunitarias efectoras, y algunas citocinas poseen funciones efectoras directas propias.

El término *citocina* incluye las secretadas por linfocitos, sustancias que se conocían con anterioridad como **linfocinas**, y las liberadas por monocitos y macrófagos, que antes se denominaban **monocinas**. Aunque aún se utilizan estos dos términos, son engañosos porque la secreción de muchas linfocinas y monocinas no se limita a los linfocitos y monocitos, como implican estos términos, sino que se extiende a una amplia gama de células y tipos. Por esta razón es preferible el nombre más inclusivo de *citocina*.

Muchas citocinas se llaman **interleucinas** porque algunos leucocitos las secretan y pueden actuar sobre otros leucocitos. Se han descrito hasta 29 interleucinas (IL-1 a IL-29). Hay razones para suponer que aún se descubrirán otras citocinas y que su grupo se expandirá aún más. Algunas citocinas se conocen con nombres comunes, como interferones y factores de necrosis tumoral, aunque algunos interferones recientemente descritos, como los miembros de la familia de interferones λ, también reciben una designación IL. Un subconjunto más de citocinas son las **quimiocinas**, citocinas de bajo peso molecular que intervienen en la quimiotaxis y otros aspectos de la conducta de los leucocitos. Estas moléculas, que tienen un papel importante en la reacción inflamatoria, se presentaron en el capítulo 3 y se describen con más detalle en el capítulo 13.

Este capítulo se concentra en la actividad biológica de las citocinas, su estructura y sus receptores, la transducción de señales por receptores de citocinas, la participación de las anormalidades de las citocinas en la patogenia de ciertas enfermedades y los usos terapéuticos de las citocinas o sus receptores. En el capítulo 13 se describe el importante lugar de las citocinas en la reacción inflamatoria.

Propiedades de las citocinas

Las citocinas se unen a receptores específicos en la membrana de las células blanco e inician vías de transducción de señales que al final alteran la expresión génica en las células blanco (fig. 12-1a). La susceptibilidad de la célula blanco a una citocina particular depende de la presencia de receptores de membrana específicos. Veremos más adelante que los receptores de citocina pueden estar constituidos por varias cadenas distintas, y que el receptor para una citocina dada puede existir en diversas combinaciones de estas cadenas componentes en la superficie celular. Estas combinaciones de cadenas varían en la afinidad con que se unen a la citocina, y también pueden variar en su capacidad de iniciar una vía de transducción de señales después de la unión. En general, las citocinas y sus receptores completamente ensamblados exhiben afinidad muy alta entre sí, y envían señales intracelulares. Las constantes de disociación de las citocinas y sus receptores óptimos varían de 10^{-10} a 10^{-12} M. Debido a que

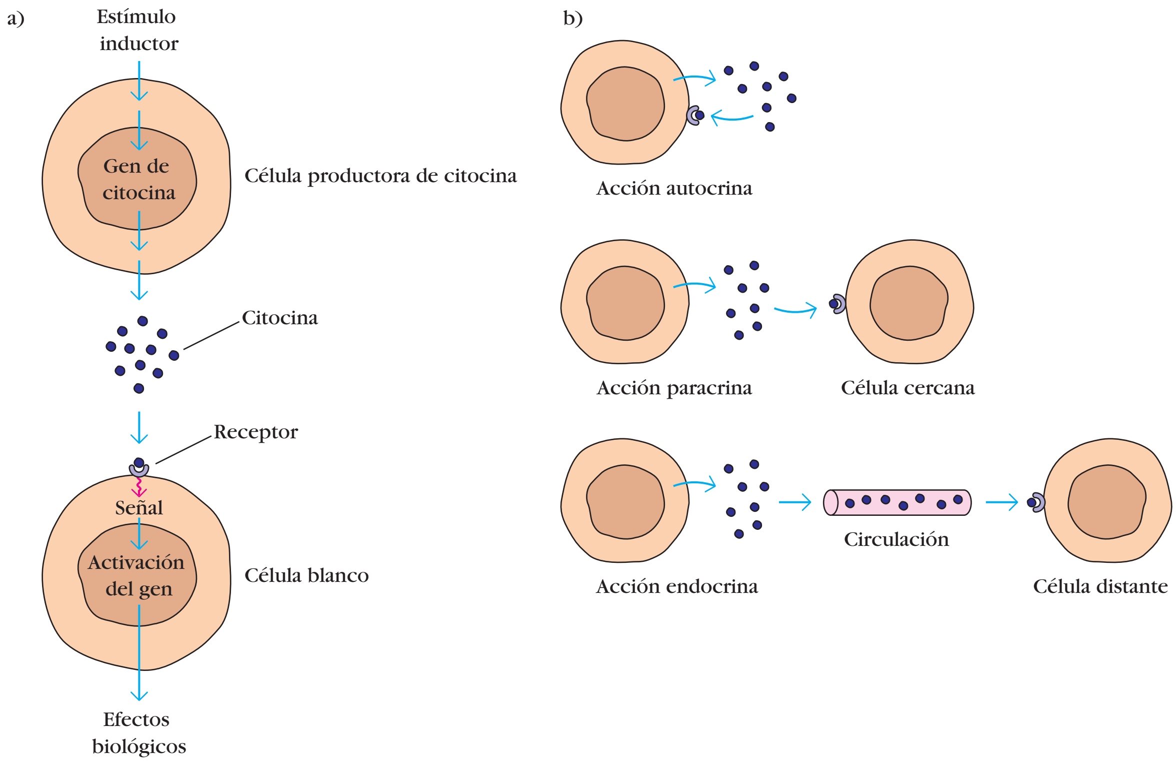


FIGURA 12-1 a) Generalidades de la inducción y función de citocinas. b) Casi todas las citocinas muestran acción autocrina, paracrina, o ambas; exhiben en menor proporción acción endocrina.

sus afinidades son tan altas, las citocinas pueden mediar efectos biológicos a concentraciones picomolares.

Una citocina dada puede unirse a receptores en la membrana de la misma célula que la secreta y ejercer una acción **autocrina**, adherirse a receptores en una célula blanco cercana a la célula productora y llevar a cabo un efecto **paracrino**; en unos cuantos casos, se une a células blanco en partes distantes del cuerpo y tiene una acción **endocrina** (fig. 12-1b). Las citocinas regulan la intensidad y duración de la respuesta inmunitaria al estimular o inhibir la activación, proliferación, diferenciación —o alguna combinación de ellas— de diversas células, y controlar la secreción de anticuerpos u otras citocinas. Como se describe más adelante, la unión de una citocina determinada a células blanco reactivas suele estimular una mayor expresión de receptores de citocina y la secreción de otras citocinas, que afectan a su vez otras células blanco. En consecuencia, las citocinas secretadas incluso por un número pequeño de linfocitos activados por antígeno pueden influir en la actividad de múltiples células relacionadas con la reacción inmunitaria. Por ejemplo, las citocinas elaboradas por células T_H pueden influir en la actividad de células B, T_C y asesinas naturales, macrófagos, granulocitos y células madre hematopoyéticas, y por tanto movilizan una red completa de células que interactúan.

Las citocinas muestran los atributos de pleiotropía, redundancia, sinergia, antagonismo e inducción en cascada, que les permiten regular la actividad celular en una forma interactiva coordinada (fig. 12-2). Una citocina determinada que posee diferentes efectos biológicos en distintas células blanco tiene una acción pleiotrópica. Se dice que dos o más citocinas que median funciones similares son redundantes; la redundancia dificulta atribuir una actividad particular a una citocina aislada. Se observa sinergia de citocinas cuando la acción combinada de dos citocinas en la actividad celular es mayor que los efectos de las citocinas individuales. En algunos casos, las citocinas muestran antagonismo, es decir, los efectos de una citocina inhiben o neutralizan las acciones de otras citocinas. Tiene lugar una inducción en cascada cuando la acción de una citocina en una célula blanco induce a la célula a liberar una o más citocinas distintas, que a su vez pueden inducir a otras células blanco a producir otras citocinas.

Debido a que las citocinas comparten diversas propiedades con hormonas y factores de crecimiento, muchas veces no es muy clara la diferenciación entre estas tres clases de mediadores. Los tres son factores solubles secretados que ejercen sus efectos biológicos a concentraciones picomolares por unión a receptores en células blanco. Sin embargo, algunas diferencias en sus características generales los distinguen. Por ejemplo, los tres mediadores difieren en sus modos de expresión: los factores de crecimiento tienden a producirse de manera constitutiva, en tanto que las citocinas y las hormonas se secretan en respuesta a estímulos bien definidos y su secreción es de escasa duración, por lo general de unas cuantas horas a unos días. A diferencia de las hormonas, que suelen actuar a larga distancia en forma endocrina, casi todas las citocinas lo hacen en una distancia corta de manera autocrina o paracrina. Además, la mayor parte de las hormonas procede de glándulas especializadas y tienden a ejercer una acción única en uno o unos cuantos tipos de células blanco. En contraste, a menudo las citocinas se producen en diversas células y se unen asimismo a una diversidad de ellas.

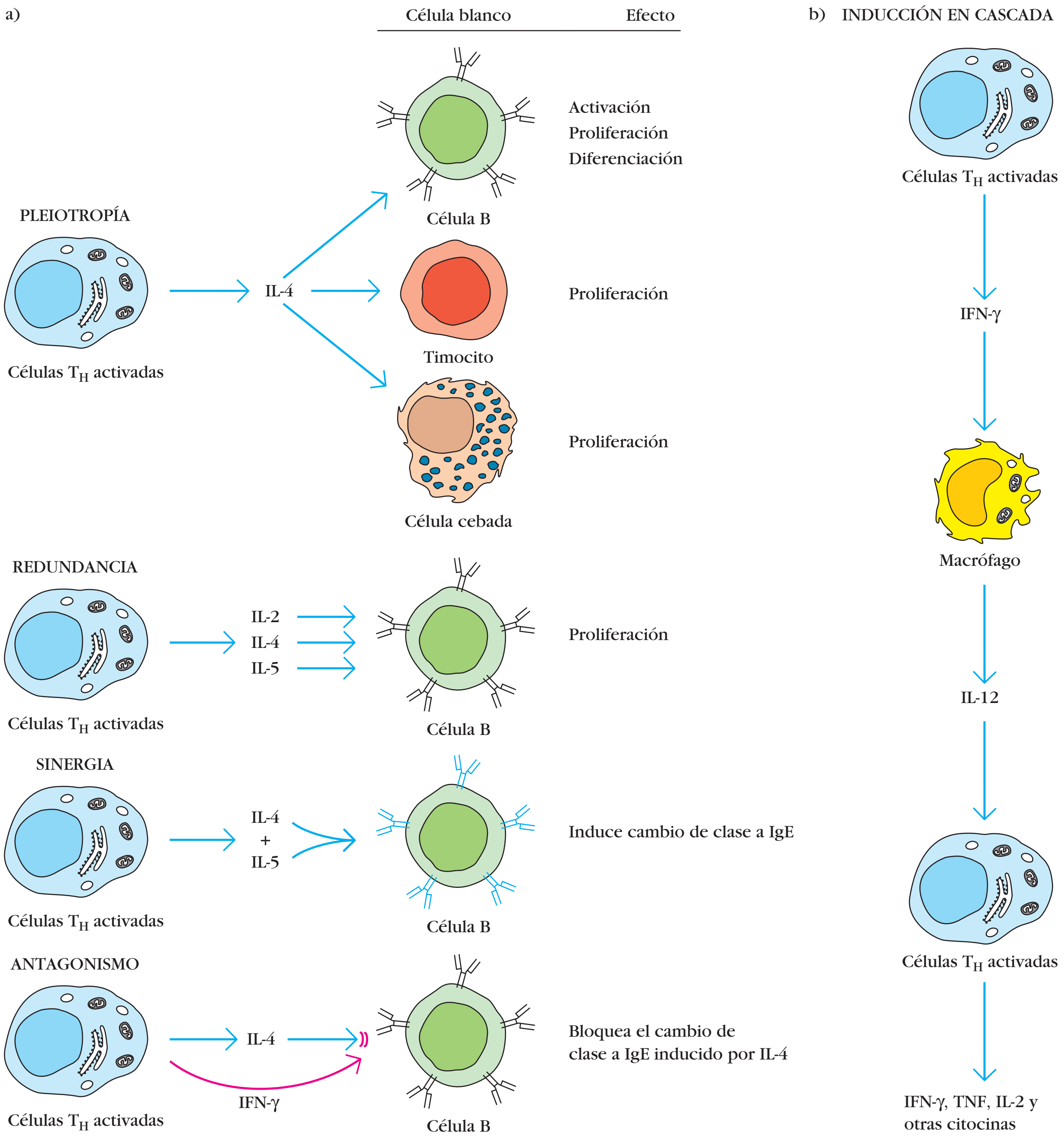

a)
Célula blanco
Efecto
PLEIOTROPÍA
Células T_H activadas
IL-4
Célula B
Activación
Proliferación
Diferenciación
Timocito
Proliferación
Célula cebada
Proliferación
REDUNDANCIA
Células T_H activadas
IL-2
IL-4
IL-5
Célula B
Proliferación
SINERGIA
Células T_H activadas
IL-4
+
IL-5
Célula B
Induce cambio de clase a IgE
ANTAGONISMO
Células T_H activadas
IL-4
IFN-γ
Célula B
Bloquea el cambio de
clase a IgE inducido por IL-4
b) INDUCCIÓN EN CASCADA
Células T_H activadas
IFN-γ
Macrófago
IL-12
Células T_H activadas
IFN-γ, TNF, IL-2 y
otras citocinas

FIGURA 12-2 **Atributos de las citocinas. a) Pleiotropía, redundancia, sinergia (sinergismo) y antagonismo. b) Inducción en cascada.**

La actividad de las citocinas se reconoció por primera vez a mediados de la década de 1960, cuando se encontró que los sobrenadantes derivados de cultivos in vitro de linfocitos contenían factores que podían regular la proliferación, diferenciación y maduración de células del sistema inmunitario, incluidas las de hospedadores que difieren en su constitución genética. Poco después se descubrió que la producción de estos factores por linfocitos cultivados se inducía por activación con antígeno o mitógenos no específicos. El aislamiento y la purificación bioquímica de las citocinas fueron obstaculizados por su baja concentración en sobrenadantes de cultivos y la ausencia de sistemas de valoración bien definidos para citocinas específicas. Se consiguió un gran adelanto con el desarrollo de técnicas de clonación génica durante las décadas de 1970 y 1980, que hizo posible producir citocinas puras por expresión de la proteína a partir de genes clonados. El descubrimiento de líneas celulares, cuyo crecimiento depende de la presencia de una citocina particular, proporcionó a los investigadores los primeros sistemas de valoración simples. La obtención de anticuerpos monoclonales específicos para cada una de las citocinas más importantes

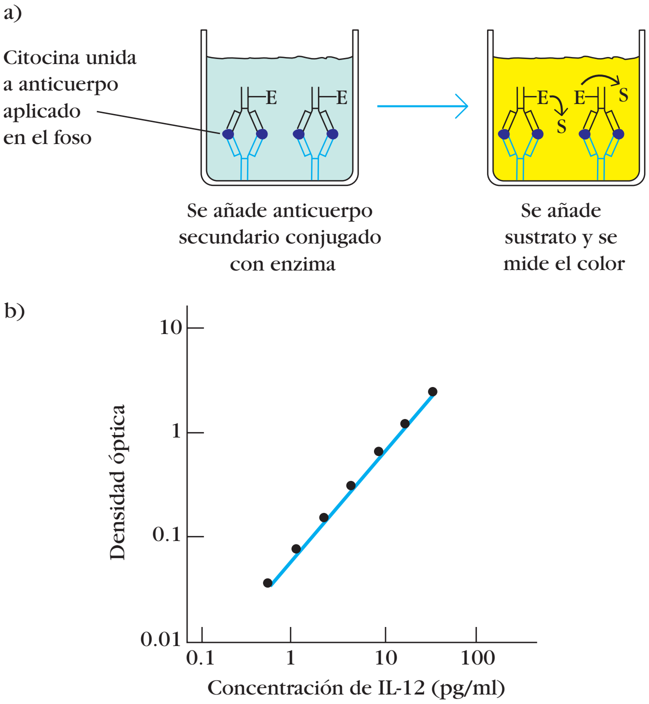


FIGURA 12-3 Valoración ELISA de una citocina. a) Se captura la muestra que contiene la citocina de interés mediante anticuerpo específico (azul) aplicado en fosos de una placa de microtítulo. Un segundo anticuerpo específico (azul), conjugado en una enzima (E) como peroxidasa de rábano picante, forma un sándwich como la citocina capturada e inmoviliza la enzima en el foso de microtítulos. Se añade un sustrato cromógeno (S) y la enzima genera un color cuya intensidad es proporcional a la cantidad de citocina unida al anticuerpo de captura. Se compara la densidad óptica de este color producido por la muestra desconocida con valores en una curva estándar determinada de manera apropiada. b) La curva estándar que se muestra aquí es para la interleucina 12 (IL-12) humana. Es obvio que esta valoración es sensible en grado suficiente para detectar tan poco como un picogramo de IL-12. *[Parte b cortesía de R&D Systems.]*

permitió desarrollar inmunovaloraciones cuantitativas rápidas para cada una de ellas (fig. 12-3). Además de usarse en el ELISA ilustrado aquí, se emplean anticuerpos anticitocina específicos para la tinción intracelular por análisis FACS y en el ensayo ELISPOT, que mide la secreción de una citocina específica por células de una población (fig. 6-11).

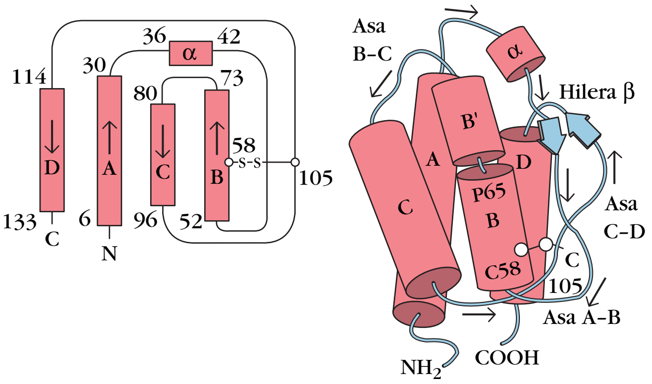
Las citocinas pertenecen a cuatro familias estructurales

En años recientes ha ocurrido una explosión de datos acerca de nuevas citocinas y nuevos receptores. Los investigadores continuarán reuniendo información en este campo, y descubriendo muchas características sutiles de las citocinas y sus múltiples actividades e interacciones. Es importante enfatizar que sin importar cuán larga llegue a ser la lista de moléculas, todas comparten características en común, y casi todas las citocinas descubiertas en fecha reciente actúan de manera concertada con otras. Los avances en los análisis genómicos hacen posible buscar en el genoma proteínas que comparten distintas propiedades. Así, se sabe que existen siete miembros del grupo IL-1, a diferencia de lo que se creía. Las implicaciones exactas de esto para la inmunidad quedan por aclararse, y van más allá de los alcances de esta exposición. El objetivo aquí no es presentar una lista exhaustiva de las citocinas (véase el apéndice II) sino enunciar los principios generales que deben aplicarse a medida que se descubran más citocinas.

Una vez que se clonaron los genes que codifican diversas citocinas, se dispuso de cantidades suficientes de preparados purificados para estudios detallados sobre su estructura y función. Estos estudios revelaron características en común. Las citocinas tienen casi siempre una masa molecular menor de 30 kDa. Los estudios estructurales demostraron que las citocinas caracterizadas hasta ese momento pertenecían a uno de cuatro grupos o familias: eritropoyetina, interferón, quimiocina o factor de necrosis tumoral.

En la figura 12-4 se muestran las estructuras de dos miembros de la familia eritropoyetina, IL-2 e IL-4. Aunque las secuencias

a) Interleucina 2



b) Interleucina 4

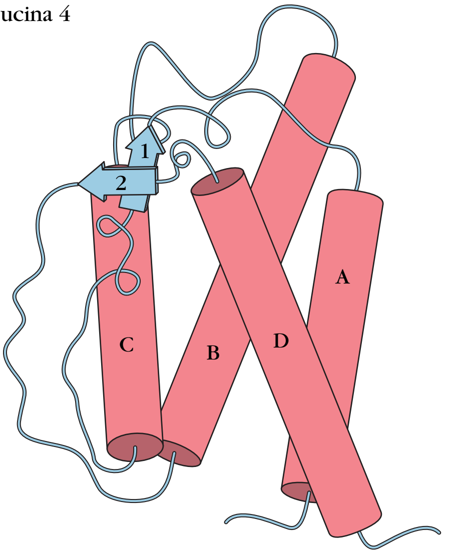
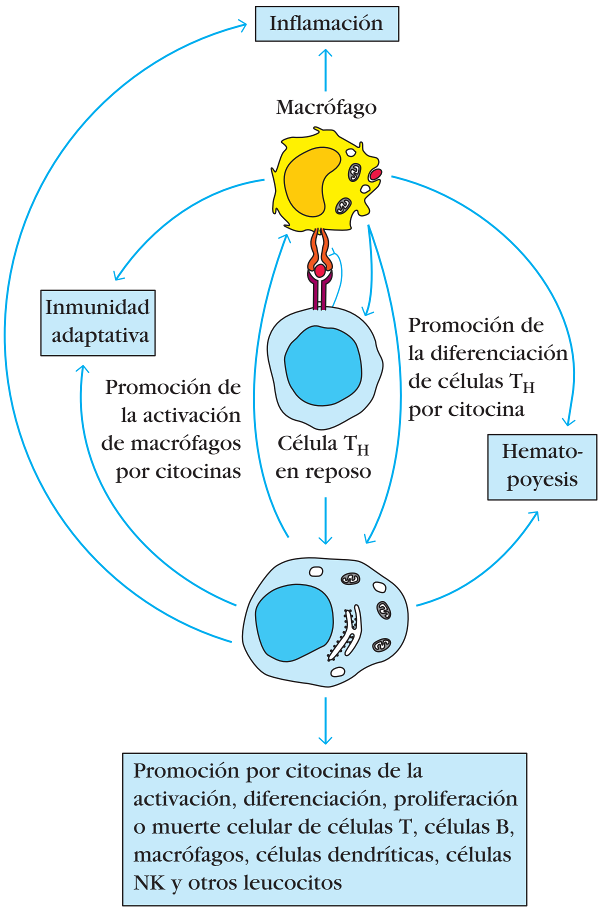


FIGURA 12-4 Varias representaciones de estructuras de la familia de la eritropoyetina. a) *Izquierda:* representación topográfica de la estructura primaria de IL-2 que muestra regiones helicoidales α (α y A-D) y cadenas que unen la molécula; *derecha:* modelo tridimensional propuesto de IL-2. b) Modelo de listón de IL-4 inferido del análisis cristalográfico con rayos X de la molécula. En a) y b) las hélices α se muestran en rojo y las láminas β en azul. Se piensa que las estructuras de otras citocinas que pertenecen a la familia de las eritropoyetinas son en general similares. *[Parte b de J. L. Boulay y W. E. Paul, 1993,* Current Biology ***3****:573.]*

FIGURA 12-5 PARA VISUALIZACIÓN DE CONCEPTOS: Funciones de las citocinas en la inmunidad innata y la adaptativa


Inflamación
Macrófago
Inmunidad adaptativa
Promoción de la activación de macrófagos por citocinas
Célula T_H en reposo
Promoción de la diferenciación de células T_H por citocina
Hemato-poyesis
Promoción por citocinas de la activación, diferenciación, proliferación o muerte celular de células T, células B, macrófagos, células dendríticas, células NK y otros leucocitos

La interacción de antígeno con macrófagos y la activación subsecuente de células T_H en reposo conducen a la liberación de múltiples citocinas (flechas azules), que genera una red compleja de células que interactúan en la reacción inmunitaria.

de aminoácidos de estos miembros de la familia difieren considerablemente, todos ellos tienen un alto grado de estructura helicoidal α y carecen de estructura de lámina β o ésta es muy pequeña. Las moléculas comparten un doblez polipeptídico similar, con cuatro regiones helicoidales α (A a D) en las que las hélices primera y segunda, y tercera y cuarta, discurren más o menos paralelas entre sí y están conectadas con asas.

Las citocinas tienen múltiples funciones biológicas

Aunque diversas células pueden secretar citocinas, los principales productores son células T_H, células dendríticas y macrófagos. Las citocinas que se liberan de estos dos tipos celulares activan una red completa de células interactivas (fig. 12-5). Entre las múltiples respuestas fisiológicas que requieren la participación de citocinas se incluyen el desarrollo de las reacciones inmunitarias celular y humoral, la inducción de la respuesta inflamatoria, la regulación de la hematopoyesis, el control de la proliferación y diferenciación celulares y la cicatrización de heridas. Aunque la reacción inmunitaria a un antígeno específico puede incluir la producción de citocinas, es importante recordar que estas últimas actúan en una forma no específica de antígeno. Es decir, afectan cualquier célula que porte los receptores apropiados y se mantienen en un estado fisiológico predispuesto a la reacción.

En conjunto, la cifra total de proteínas con actividad de citocina probablemente excede el centenar, y las investigaciones no han dejado de descubrir nuevas proteínas. En el cuadro 12-1 se resumen las actividades de algunas citocinas y se disponen en grupos funcionales. En el apéndice II se presenta una lista más amplia de citocinas. Debe recordarse que la mayor parte de las funciones indicadas se identificaron al analizar los efectos de citocinas recombinantes, a menudo agregadas en concentraciones no fisiológicas a sistemas in vitro. Sin embargo, in vivo, las citocinas rara vez, si acaso, actúan solas. Por el contrario, una

CUADRO 12-1 **Grupos funcionales de citocinas seleccionadas***

Citocina[†]	Secretada por[‡]	Blancos y efectos
	ALGUNAS CITOCINAS DE LA INMUNIDAD INNATA	
Interleucina 1 (IL-1)	Monocitos, macrófagos, células endoteliales, células epiteliales	Vasculatura (inflamación); hipotálamo (fiebre); hígado (inducción de proteínas de fase aguda)
Factor de necrosis tumoral α (TNF-α)	Macrófagos	Vasculatura (inflamación); hígado (inducción de proteínas de fase aguda); pérdida de músculo, grasa corporal (caquexia); inducción de muerte en muchos tipos de células; activación de neutrófilos
Interleucina 12 (IL-12)	Macrófagos, células dendríticas	Células asesinas naturales (NK); modifica la inmunidad adaptativa (promueve el subconjunto T_H1)
Interleucina 6 (IL-6)	Macrófagos, células endoteliales	Hígado (induce proteínas de fase aguda); altera la inmunidad adaptativa (proliferación y secreción de anticuerpo del linaje de célula B)
Interferón α (IFN-α) (ésta es una familia de moléculas)	Macrófagos	Induce un estado antivírico en la mayor parte de las células nucleadas; incrementa la expresión de MHC clase I; activa células NK
Interferón β (IFN-β)	Fibroblastos	Induce un estado antivírico en la mayor parte de las células nucleadas; incrementa la expresión de MHC clase I; activa células NK
	ALGUNAS CITOCINAS DE LA INMUNIDAD ADAPTATIVA	
Interleucina 2 (IL-2)	Células T	Proliferación de células T; puede promover AICD; activación y proliferación de células NK; proliferación de células B
Interleucina 4 (IL-4)	Células T_H2; células cebadas	Promueve la diferenciación de T_H2; cambio de isotipo a IgE
Interleucina 5 (IL-5)	Células T_H2	Activación y generación de eosinófilos
Factor de crecimiento transformante β (TGF-β)	Células T, macrófagos, otros tipos de células	Inhibe la proliferación de células T y las funciones efectoras; inhibe la proliferación de células B; promueve el cambio de isotipo a IgA; inhibe macrófagos
Interferón γ (IFN-γ)	Células T_H1, células $CD8^+$, células NK	Activa macrófagos; aumenta la expresión de moléculas MHC clases I y II; incrementa la presentación de antígeno

*Muchas citocinas tienen acciones en más de una categoría funcional.

[†] Sólo se incluyen los tipos principales de células que proporcionan citocinas para la actividad indicada; otros tipos de células también pueden tener la capacidad de sintetizar la citocina dada.

[‡] También cabe señalar que las células activadas suelen secretar cantidades mayores de citocina que las células no activadas.

célula blanco se expone a un medio que contiene una mezcla de citocinas y sus efectos sinérgicos o antagonistas combinados pueden tener consecuencias muy diferentes. Además, las citocinas inducen con frecuencia la síntesis de otras y el resultado es una cascada de actividad.

Al parecer, la falta de especificidad de las citocinas se opone a la especificidad establecida del sistema inmunitario. ¿Qué impide que las citocinas inespecíficas activen células en una forma no específica durante la reacción inmunitaria? Una forma en que se conserva la especificidad es la regulación cuidadosa de la expresión de receptores de citocina en las células. Muchas veces, los receptores de citocina sólo se expresan en una célula después que ésta interactúa con antígeno, de modo que la respuesta de citocinas se limita a linfocitos activados por antígeno. La especificidad también puede conservarse si la secreción de citocinas ocurre sólo cuando la célula productora de citocina interactúa de manera directa con la célula blanco, lo cual asegura que haya concentraciones eficaces de la citocina sólo en la cercanía del blanco deseado. En el caso de las células T_H, un productor importante de citocinas, ocurre interacción celular cuando el receptor de la célula T reconoce un complejo antígeno-MHC en una célula presentadora de antígeno apropiada, como un macrófago, una célula dendrítica o un linfocito B. La concentración de citocinas que se secretan en la unión de estas células interactivas alcanza valores locales suficientemente elevados para afectar la APC blanco, pero no células más distantes. Además, la vida media de las citocinas en el torrente sanguíneo u otros líquidos extracelulares en que se secretan suele ser muy corta, lo cual asegura que actúen sólo por un tiempo limitado y por tanto a una corta distancia.

Receptores de citocinas

Como ya se dijo, las citocinas ejercen sus efectos biológicos uniéndose a receptores específicos expresados en la membrana de células blanco reactivas. Muchos tipos de células expresan estos receptores y son susceptibles a la acción de las citocinas. La caracterización bioquímica de receptores de citocinas progresó al inicio a un ritmo muy lento, toda vez que sus concentraciones en la membrana de células reactivas es muy baja. Como en el caso de las propias citocinas, la clonación de los genes que codifican receptores de citocina hizo posible rápidos adelantos en la identificación y caracterización de estos receptores.

Los receptores de citocina pertenecen a cinco familias

Los receptores para las distintas citocinas son muy diversos desde el punto de vista estructural, pero casi todos pertenecen a una de cinco familias de proteínas receptoras (fig. 12-6):

- Receptores de la superfamilia de las inmunoglobulinas.
- Familia de receptores de citocinas clase I (que también se conoce como familia del receptor de eritropoyetina).
- Familia del receptor de citocina clase II (conocida asimismo como familia del receptor de interferón).
- Familia del receptor de TNF.
- Familia del receptor de quimiocinas.

La superfamilia de las inmunoglobulinas incluye el receptor de IL-1. Se han caracterizado bien dos formas de IL-1, llamadas IL-1α e IL-1β. Aunque estas dos proteínas son sólo alrededor de 30% idénticas en secuencia, al parecer son idénticas en función y se unen a los mismos receptores y median las mismas respuestas. Se conocen dos receptores distintos para IL-1, ambos miembros de la superfamilia Ig de proteínas. El IL-1R tipo 1 se expresa en muchos tipos celulares, mientras que el tipo 2 se limita a células B. La unión de IL-1 al receptor tipo 2 no inicia respuestas típicas de IL-1, lo cual hace pensar que el IL-1R tipo 2 es un señuelo encaminado a eliminar IL-1, con lo que impide su unión a receptores tipo 1. En el capítulo 3 se presentó el receptor tipo 1 para IL-1, cuando se introdujeron los receptores tipo Toll. El dominio citoplásmico de los TLR, el TIR o receptor Toll/IL-1, es similar a la región homóloga del IL-1R (fig. 3-10). La IL-1 tiene un papel clave en la inflamación y se le considera una citocina proinflamatoria. La IL-18 se relaciona con IL-1, utiliza la misma familia de receptores y tiene función similar.

La mayoría de los receptores de unión a citocina que funcionan en los sistemas inmunitario y hematopoyético pertenece a la familia de receptores de citocina clase I, conocida también como familia de receptores de eritropoyetina. Los miembros de esta familia tienen motivos de secuencias de aminoácidos conservadas en el dominio extracelular que consisten en cuatro residuos cisteína mantenidos en su posición (CCCC) y una secuencia conservada de triptófano-serina-(cualquier aminoácido)-triptófano-serina (WSXWS, donde X es el aminoácido no conservado). Los receptores de todas las citocinas que se clasifican como

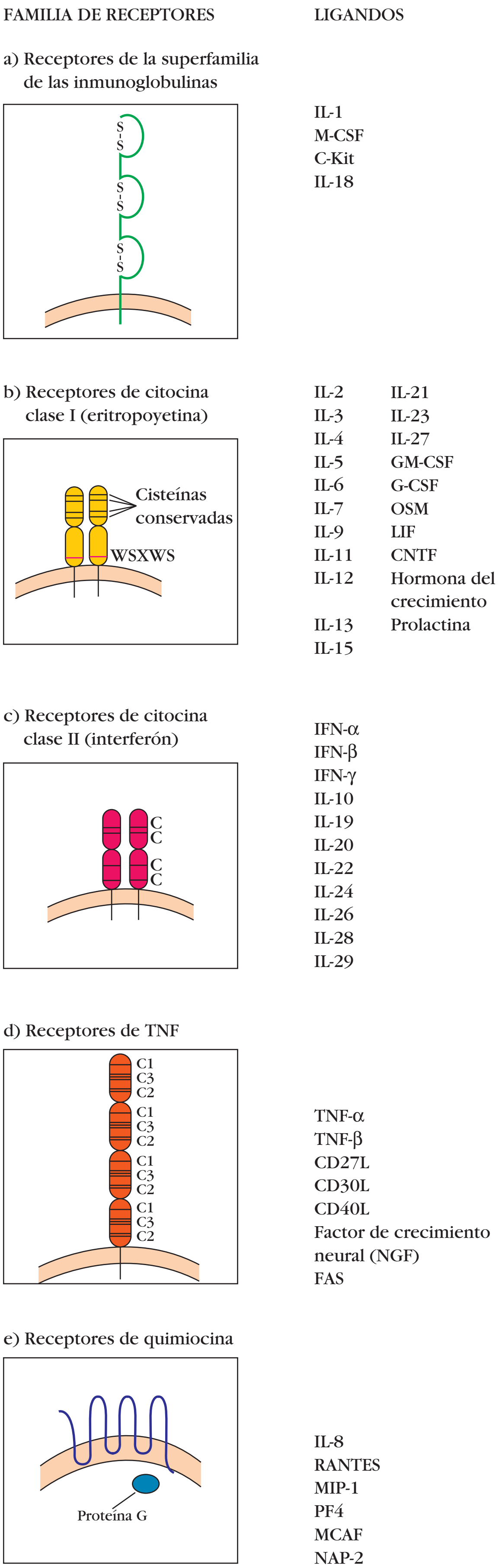

FAMILIA DE RECEPTORES
LIGANDOS
a) Receptores de la superfamilia de las inmunoglobulinas
S-S
S-S
S-S
IL-1
M-CSF
C-Kit
IL-18
b) Receptores de citocina clase I (eritropoyetina)
Cisteínas conservadas
WSXWS
IL-2
IL-3
IL-4
IL-5
IL-6
IL-7
IL-9
IL-11
IL-12
IL-13
IL-15
IL-21
IL-23
IL-27
GM-CSF
G-CSF
OSM
LIF
CNTF
Hormona del crecimiento
Prolactina
c) Receptores de citocina clase II (interferón)
C
C
C
C
IFN-α
IFN-β
IFN-γ
IL-10
IL-19
IL-20
IL-22
IL-24
IL-26
IL-28
IL-29
d) Receptores de TNF
C1
C3
C2
TNF-α
TNF-β
CD27L
CD30L
CD40L
Factor de crecimiento neural (NGF)
FAS
e) Receptores de quimiocina
Proteína G
IL-8
RANTES
MIP-1
PF4
MCAF
NAP-2

FIGURA 12-6 Diagramas esquemáticos que muestran las características estructurales que definen los cinco tipos de proteínas receptoras a las cuales se unen la mayor parte de las citocinas. Los receptores para casi todas las interleucinas pertenecen a la familia del receptor de citocina clase I. C se refiere a la cisteína conservada.

eritropoyetinas pertenecen a la familia de receptores de citocina clase I. La IL-2 y aproximadamente 13 interleucinas más, así como varios factores estimulantes de colonias y hormonas del crecimiento, se unen a los receptores de esta familia. Se dispone de datos estructurales para la mayoría de los receptores del grupo tipo I, excepto por la IL-27R, descrita en fecha reciente, que tiene una cadena en común con otros receptores de la familia y otra cadena que aún no se identifica.

Los receptores de citocina clase II (a veces llamados familia de receptores de interferón) poseen el motivo conservado CCCC, pero carecen del motivo WSXWS que se encuentra en los receptores de citocina clase I. Al principio se pensó que sólo los interferones α, β y γ eran ligandos de estos receptores. Sin embargo, trabajos recientes demostraron que la familia consta de 12 cadenas de receptor que en sus diversas combinaciones se unen a no menos de 27 citocinas distintas, incluidas seis miembros de la familia IL-10, 17 interferones tipo I y uno tipo II, y tres miembros de la familia del interferón λ recién descrita, incluidas IL-28a, IL-28b e IL-29.

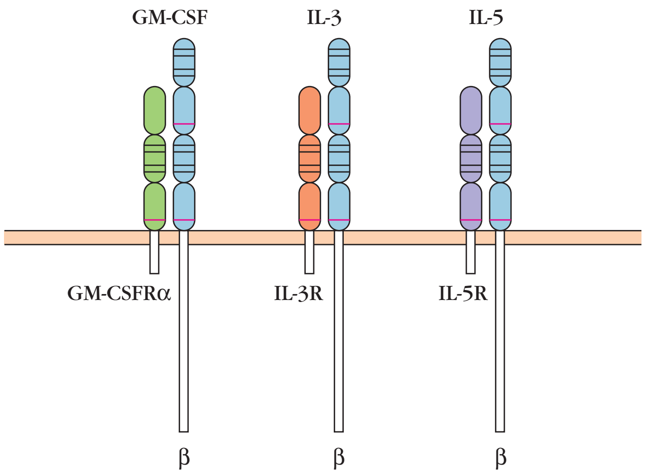
Una característica común a la mayor parte de las familias de receptores de citocina clase I y clase II es la multiplicidad de subunidades, que a menudo incluye una subunidad que une moléculas de citocina específicas y otra que media la transducción de señales. Estas dos funciones no siempre se limitan a una subunidad o la otra. Sin embargo, en todos los casos estudiados a la fecha la inclusión de los receptores de citocina clases I y II induce la fosforilación de la tirosina del receptor a través de la actividad de tirosincinasas de proteína en estrecha cercanía con el dominio citosólico de los receptores.

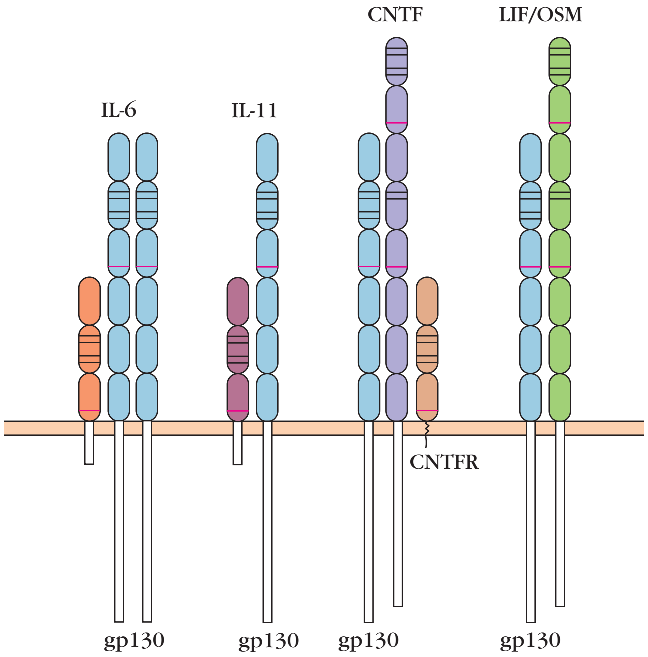
Los receptores de quimiocinas son estructuralmente distintos de los otros receptores de citocina y se describen en el capítulo 13.

Las subfamilias de los receptores de citocina clase I tienen en común subunidades de señalización

Se han identificado varias subfamilias de receptores de citocina clase I, y todos los receptores en una subfamilia tienen una subunidad de transducción de señales idéntica. En la figura 12-7 se ilustran de manera esquemática los miembros de tres subfamilias de receptores, cuyos nombres se basan en GM-CSF, IL-2 e IL-6.

El hecho de que se compartan subunidades de transducción de señales entre receptores explica la redundancia y el antagonismo que muestran algunas citocinas. Considérese la subfamilia del receptor de GM-CSF, que incluye los receptores para IL-3, IL-5 y GM-CSF (fig. 12-7a). Cada una de estas citocinas se


a) Subfamilia del receptor de GM-CSF (subunidad β común)


b) Subfamilia del receptor de IL-6 (subunidad gp130 común)

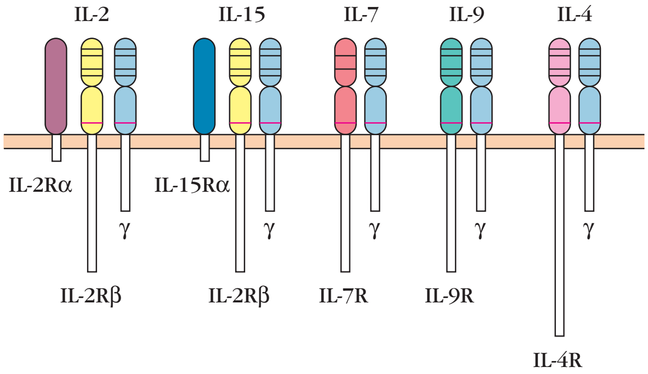

c) Subfamilia del receptor de IL-2 (subunidad γ común)

FIGURA 12-7 Diagramas esquemáticos de las tres subfamilias de receptores de citocina clase I. Todos los miembros de una subfamilia tienen una subunidad transductora de señales (azul), pero una subunidad específica de citocina única. Además de las cisteínas conservadas (líneas negras dobles) y elementos WSXWS (líneas rojas) que caracterizan a los receptores de citocina clase I, se encuentran en dominios parecidos a inmunoglobulina en algunos de estos receptores. CNTF, factor neurotrófico ciliar; LIF/OSM, factor inhibidor de leucemia/oncostatina. *[Adaptada de K. Sugamura et al., 1996,* Annual Review of Immunology ***14:****179.]*

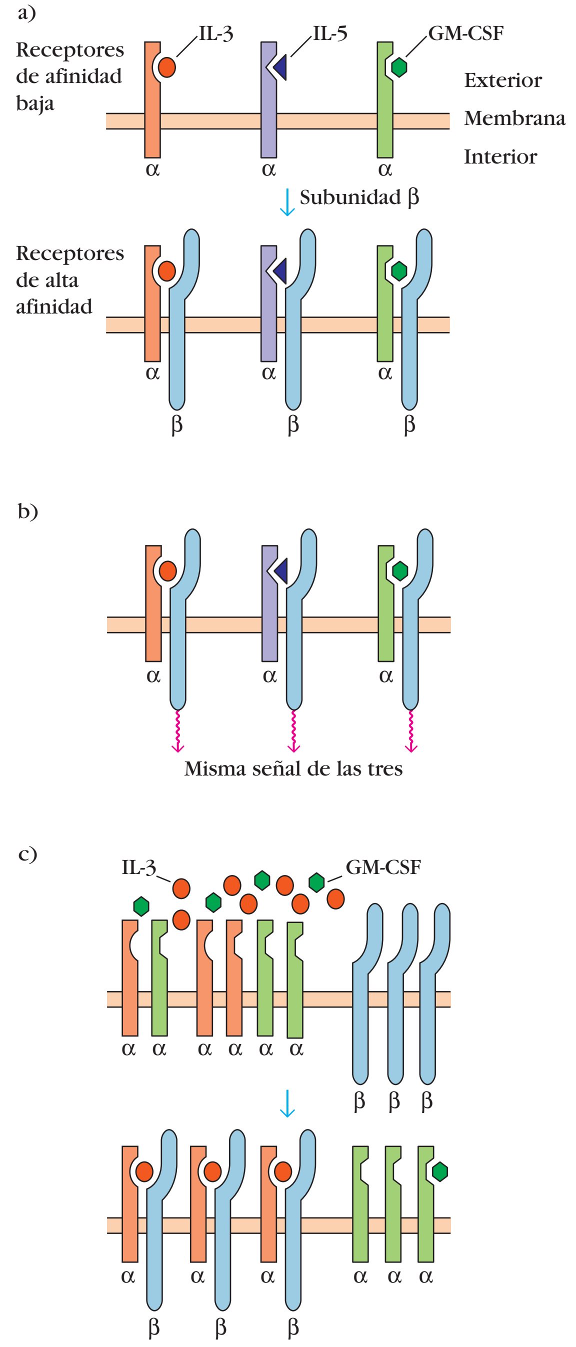


FIGURA 12-8 Interacciones entre subunidades específicas de citocina y una subunidad transductora de señales común de receptores de citocina. a) Diagrama esquemático de los receptores de afinidades baja y alta para IL-3, IL-5 y GM-CSF. Las subunidades específicas de citocina muestran unión de afinidad baja y no pueden transducir una señal de activación. La relación no covalente de cada subunidad con una subunidad β común proporciona un receptor dimérico de alta afinidad que puede transducir una señal a través de la membrana. b) La relación de subunidades específicas de citocina con una unidad de señalización común, la subunidad β, permite generar señales específicas de citocinas a pesar de la generación de la misma señal por los receptores de citocina diferentes que se muestran. c) La competencia de cadenas de unión de ligando de diferentes receptores por una subunidad común puede producir efectos antagónicos entre las citocinas. En este ejemplo, la fijación de IL-3 por las subunidades α del receptor de IL-3 les permite excluir de la competencia por las subunidades β a las cadenas α del receptor de GM-CSF. *[Parte a adaptada de T. Kishimoto et al., 1992,* Science ***258:****593.]*

une con baja afinidad a una única proteína receptora específica de citocina, la subunidad α de un receptor dimérico. Las tres subunidades de afinidad baja pueden relacionarse de manera no covalente con una subunidad β de transducción de señales común. El receptor dimérico resultante no sólo muestra mayor afinidad por la citocina sino que también puede transducir una señal a través de la membrana después de unir la citocina (fig. 12-8a). Como hecho interesante, IL-3, IL-5 y GM-CSF tienen actividades redundantes. IL-3 y GM-CSF actúan en células madre hematopoyéticas y células progenitoras, activan monocitos e inducen la diferenciación de megacariocitos. Estas tres citocinas dan lugar a la proliferación de eosinófilos y la desgranulación de basófilos con liberación de histamina.

Debido a que los receptores para IL-3, IL-5 y GM-CSF comparten una subunidad β de transducción de señales común, cabría esperar que cada una de estas citocinas transdujera una señal de activación similar y explicara la redundancia entre sus efectos biológicos (fig. 12-8b). De hecho, las tres citocinas inducen los mismos patrones de fosforilación de proteínas, aunque IL-3 y GM-CSF muestran antagonismo: GM-CSF inhibe la unión de IL-3, e IL-3 suprime la unión de GM-CSF. Este antagonismo se debe a la competencia por un número limitado de subunidades β disponibles para unirse con las subunidades α específicas de citocina de los receptores diméricos (fig. 12-8c).

Se observa una situación similar en la subfamilia del receptor IL-6, que incluye los receptores IL-6, IL-11, factor inhibidor de leucemia (LIF), oncostatina M (OSM) y factor neurotrófico ciliar (CNTF) (fig. 12-7b). En este caso una subunidad de transducción de señales común llamada gp130 se relaciona con una o dos subunidades específicas de citocina diferentes. LIF y OSM, que deben compartir ciertas características estructurales, se unen a la misma subunidad α. Como cabría esperar, las citocinas que se unen a receptores en esta subfamilia muestran actividades biológicas superpuestas: IL-6, OSM y LIF inducen la síntesis de proteínas de fase aguda por hepatocitos y la diferenciación de células de leucemia mieloide en macrófagos; IL-6, LIF y CNTF afectan el desarrollo neuronal; e IL-6, IL-11 y OSM estimulan la maduración de megacariocitos y la producción de plaquetas. La presencia de gp130 en todos los receptores de la subfamilia IL-6 explica sus vías de señalización comunes y asimismo la competencia de unión por moléculas gp130 limitadas que se observa entre estas citocinas.

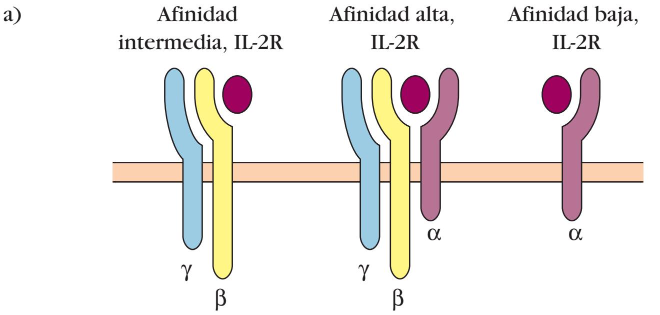
Una tercera subunidad de transducción de señales define la subfamilia del receptor IL-2, que incluye receptores para IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15 e IL-21 (fig. 12-7c). Los receptores de IL-2 e IL-15 son heterotrímeros, que se integran con una cadena α específica de citocinas y dos cadenas —β y γ— que tienen a su cargo la transducción de señales. La cadena γ del receptor de IL-2 funciona como la subunidad de transducción de señales en los otros receptores en esta subfamilia, que son todos dímeros. En fecha reciente se demostró que la **inmunodeficiencia combinada grave ligada al sexo** (**XSCID**, del inglés *X-linked severe* *combined immunodeficiency*) resulta de un defecto en el gen de la cadena γ, que se mapea en el cromosoma X. La inmunodeficiencia observada en este trastorno, que incluye pérdida de la actividad de células T y células NK, se debe a la pérdida de todas las funciones de citocinas mediadas por los receptores de la subfamilia IL-2. Una variedad de SCID en la cual las células T son defectuosas pero las células NK son normales se debe a defectos genéticos en el receptor de IL-7 (véase en el cap. 20 una exposición completa del SCID).

IL-2R es uno de los receptores de citocinas estudiado de modo más extenso

Debido al papel central de IL-2 y su receptor en la proliferación clonal de células T, el IL-2R se ha estudiado con detalle. Como se comentó en la sección previa, el receptor trimérico completo comprende tres subunidades distintas —las cadenas α, β y γ—. Las cadenas β y γ pertenecen a la familia de receptores de citocina clase I y contienen los motivos característicos CCCC y WSXWS, en tanto que la cadena α posee una estructura muy diferente y no es miembro de esta familia de receptores (fig. 12-7c).

El receptor de IL-2 ocurre en tres formas que muestran diferentes afinidades por IL-2: IL-2Rα monomérico de afinidad baja, IL-2Rβγ dimérico de afinidad intermedia y IL-2Rαβγ trimérico de alta afinidad (fig. 12-9a). En fecha reciente, un análisis por cristalografía de rayos X de la estructura de la forma trimérica de alta afinidad del receptor de IL-2 (con una molécula de IL-2 en su sitio de unión) reveló que la IL-2 se une en un bolsillo formado por las cadenas β y γ (fig. 12-9b). Cuando la cadena α está presente aporta puntos de contacto adicionales con

a)



	Afinidad intermedia, IL-2R	Afinidad alta, IL-2R	Afinidad baja, IL-2R
Composición de la subunidad:	IL-2Rβ IL-2Rγ	IL-2Rα IL-2Rβ IL-2Rγ	IL-2Rα
Constante de disociación (K_d):	10^{-9} M	10^{-11} M	10^{-8} M
Células expresadas por:	Células NK Células T en reposo (cifras bajas)	Células T CD4$^+$ y CD8$^+$ activadas Células B activadas (cifras bajas)	

b)

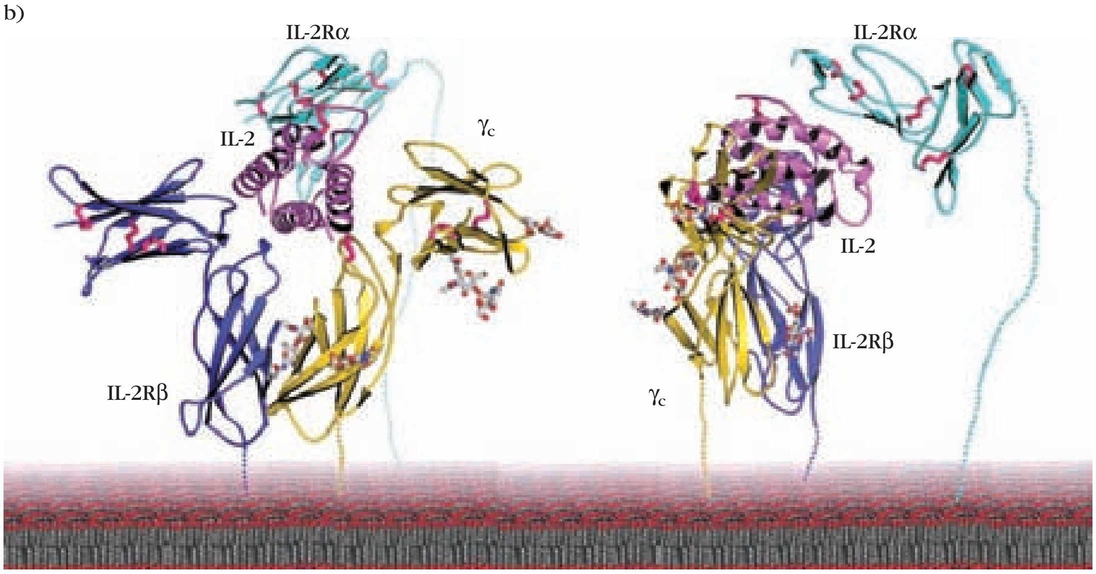


FIGURA 12-9 Comparación de las tres formas del receptor de IL-2. a) Esquema de las tres formas del receptor y listado de las constantes de disociación y propiedades de cada una. La transducción de señales es mediada por las cadenas β y γ, pero se requieren las tres cadenas para la unión de alta afinidad de IL-2. b) Estructura tridimensional de la forma tricatenaria del receptor de IL-2 con IL-2 unida (vistas giradas 90°). Obsérvese que la cadena α completa el bolsillo al cual se une IL-2, lo que explica la mayor afinidad de la forma trimérica. *[Tomada de X. Wang, M. Rickert y K. C. Garcia, 2005,* Science ***310:****1159.]*

el ligando de IL-2, lo cual explica la mayor afinidad del trímero por la unión. La unión de IL-2 al receptor que incluye sólo las cadenas β y γ ocurre con afinidad intermedia, y esta forma del receptor es capaz de realizar la transducción de señales.

Debido a que la cadena IL-2Rα sólo es expresada por células T activadas, a veces se le denomina antígeno TAC (de activación de célula T) o CD25; recuérdese que ya encontramos el CD25 antes como un marcador de caracterización de superficie en la maduración de células T (fig. 10-2). Un anticuerpo monoclonal (anti-TAC o anti-CD25) que se une a la cadena α de 55 kDa se usa a menudo con el fin de identificar IL-2Rα en las células. La presencia de altas concentraciones de CD25 en las células T maduras generalmente indica que las células se encuentran en un estado de activación, y como se expone en el capítulo 2 y con más detalle en el capítulo 16, también puede indicar la presencia de células del subconjunto T_{reg} (células CD4$^+$ con altas concentraciones de CD25). La expresión de las tres cadenas del receptor de IL-2 varía entre diferentes tipos celulares: al parecer la cadena γ se expresa de manera constitutiva en la mayoría de las células linfoides, mientras que la expresión de las cadenas α y β es más restringida y se intensifica en gran medida después de que el antígeno activa linfocitos en reposo. Esta expresión restringida asegura que sólo las células T CD4$^+$ y CD8$^+$ activadas por antígeno expresen el receptor de IL-2 de alta afinidad y proliferen en respuesta a concentraciones fisiológicas de IL-2. Las células T activadas expresan alrededor de 5×10^3 receptores de alta afinidad y 10 veces más receptores de baja afinidad. Las células NK expresan las subunidades β y γ de manera constitutiva y ello explica su capacidad de unirse a IL-2 con afinidad intermedia y ser activadas por IL-2.

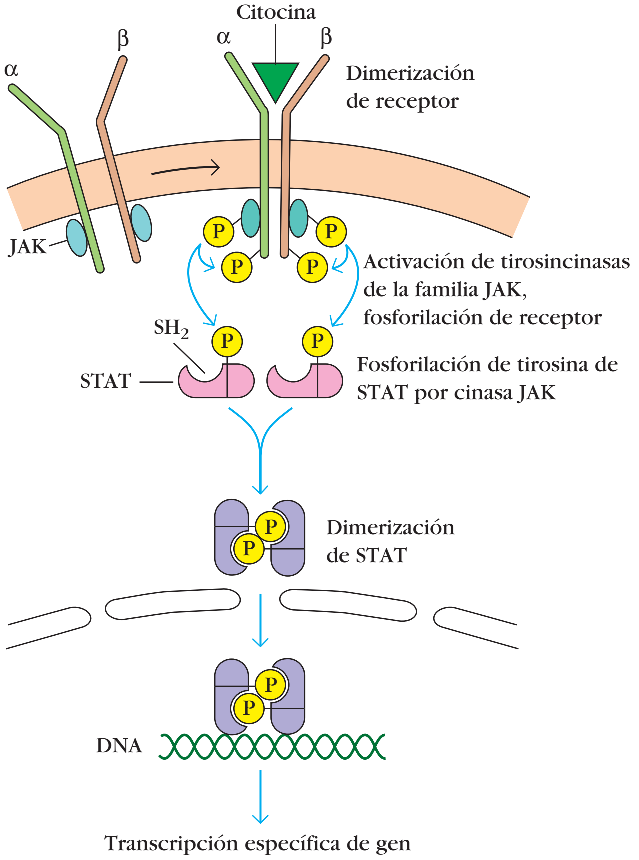

Citocina
α
β
α
β
Dimerización de receptor
JAK
P
Activación de tirosincinasas de la familia JAK, fosforilación de receptor
SH2
STAT
Fosforilación de tirosina de STAT por cinasa JAK
Dimerización de STAT
DNA
Transcripción específica de gen

FIGURA 12-10 Modelo general de transducción de señales mediada por la mayor parte de los receptores de citocina clases I y II. La unión de una citocina induce dimerización de las subunidades del receptor, lo que causa la activación de tirosincinasas JAK relacionadas con receptor a través de fosforilación recíproca. Después, las JAK activadas fosforilan varios residuos tirosina, lo que tiene como resultado la creación de sitios de acoplamiento para STAT en el receptor y la activación de uno o más factores de transcripción STAT. Los STAT fosforilados se dimerizan y transponen al núcleo, en donde activan la transcripción de genes específicos.

Los receptores de citocina inician la señalización

Si bien algunos receptores de citocina importantes no se encuentran en las familias de clases I y II, la mayor parte se incluye en estas dos familias. Como se mencionó, los receptores de citocina de clases I y II carecen de elementos de señalización (p. ej., dominios de tirosincinasa intrínsecos). No obstante, observaciones iniciales demostraron que uno de los primeros fenómenos después de la interacción de una citocina con uno de estos receptores es una serie de fosforilaciones de tirosina en proteínas. Si bien estos resultados fueron desconcertantes al inicio, se explicaron cuando surgió un modelo unificador de estudios de los fenómenos moleculares desencadenados por la unión de interferón γ (IFN-γ) a su receptor, un miembro de la familia clase II.

El IFN-γ se descubrió por su capacidad de inducir a las células a bloquear o inhibir la multiplicación de una amplia variedad de virus. La actividad antivírica es una propiedad que comparte con IFN-α e IFN-β. Sin embargo, a diferencia de estos otros interferones, el IFN-γ tiene una función central en muchos procesos inmunorreguladores, que incluyen la regulación de fagocitos mononucleares, el cambio de células B a ciertas clases de IgG y el sustento o inhibición del desarrollo de subconjuntos de células T_H. El descubrimiento de la principal vía de señalización originada por la interacción del IFN-γ con su receptor llevó a reconocer que la transducción de señales a través de la mayor parte de los receptores de citocinas de clases I y II, si no es que la totalidad de ellos, incluye las etapas siguientes, que son la base de un modelo unificador de señalización por citocina (fig. 12-10).

- *El receptor de citocina se compone de subunidades separadas*, una cadena α necesaria para la unión de la citocina y la transducción de señales y una cadena β que se requiere para la señalización, pero a menudo sólo con una acción menor en la unión.
- *Diferentes tirosincinasas de proteína inactivas se unen con distintas subunidades del receptor.* La cadena α del receptor se vincula con una familia novedosa de tirosincinasas de proteína, la familia de cinasas Janus (JAK).* La unión de

---

*El dios romano Jano tenía dos caras. Las cinasas de la familia Janus tienen dos sitios, uno de unión en el cual se unen con la subunidad del receptor de citocina y otro catalítico que, cuando se activa, tiene actividad de tirosincinasa de proteína. Algunos bioquímicos, preocupados por la multitud de diferentes cinasas de proteína que se descubrieron, afirman que JAK proviene del inglés *just another kinase: sólo una cinasa más.*

la JAK y la subunidad de receptor ocurre de manera espontánea y no requiere la unión de una citocina. Sin embargo, en ausencia de la citocina, la JAK carece de actividad de tirosincinasa de proteína.

- *La unión de citocina induce el enlace de las dos subunidades del receptor de citocina separadas y la activación de las JAK relacionadas con receptor.* La capacidad del IFN-γ, que se une a un receptor de citocina clase II, de llevar a cabo el enlace de las cadenas que unen ligando de su receptor se demostró de manera directa mediante estudios cristalográficos con rayos X, como se muestra en la figura 12-11.
- *Las JAK activadas crean sitios de acoplamiento para los factores de transcripción de STAT mediante la fosforilación de residuos tirosina específicos en subunidades del receptor de citocina.* Una vez que se activan las JAK relacionadas con receptor, fosforilan tirosinas específicas en las subunidades del receptor del complejo. Los miembros de una familia de factores de transcripción conocida como **STAT** (del inglés *signal transducers and activators of transcription*, **transductores de señales y activadores de la transcripción**) se unen a estos residuos tirosina fosforilados. Los STAT específicos tienen acciones esenciales en las vías de señalización de una extensa variedad de citocinas (cuadro 12-2). La unión de STAT a subunidades del receptor es mediada por el enlace del dominio SH_2 en el STAT al sitio de acoplamiento (unión) creado por la fosforilación mediada por JAK de una tirosina particular en subunidades del receptor.
- *Después de experimentar fosforilación mediada por JAK, los factores de transcripción STAT se transponen de los sitios de acoplamiento del receptor en la membrana hacia el núcleo, donde inician la transcripción de genes específicos.* Mientras están acoplados a subunidades del receptor, los STAT sufren la fosforilación catalizada por JAK de una tirosina fundamental. A ello le sigue la disociación de los STAT de las subunidades del receptor y su dimerización. Luego los dímeros STAT se transponen al interior del núcleo e inducen la expresión de genes que contienen secuencias reguladoras apropiadas en sus regiones promotoras.

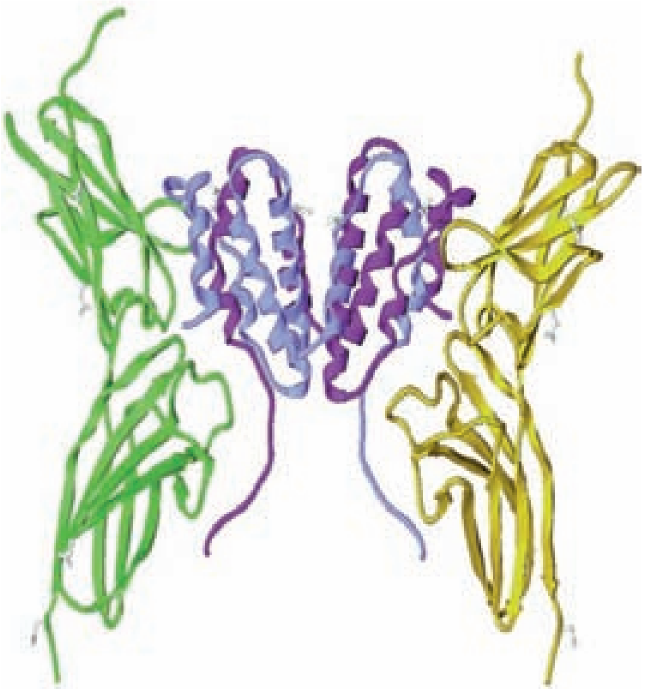


FIGURA 12-11 Complejo entre IFN-γ y las cadenas de unión a ligando de su receptor. Este modelo se basa en el análisis cristalográfico con rayos X de un complejo cristalino de interferón γ (violeta y azul) unido a cadenas α de unión a ligando del receptor (verde y amarillo). Obsérvese que el IFN-γ se muestra en su forma dimérica natural; cada miembro del dímero incluye la cadena α de un receptor de IFN-γ y, por consiguiente, lleva a cabo dimerización del receptor y transducción de señales. *[Tomada de M. R. Walter et al., 1995,* Nature ***376:****230, cortesía de M. Walter, University of Alabama.]*

CUADRO 12-2 Interacción de STAT y JAK con receptores de citocinas seleccionados durante la transducción de señales

Receptor de citocina	JAK	STAT
IFN-γ	JAK1 y JAK2	Stat1
IFN-α/β	JAK1 y Tyk-2*	Stat2
IL-2	JAK1 y JAK3	Stat5
IL-3	JAK2	Stat5
IL-4	JAK1 y JAK3	Stat6
IL-6	JAK1 (y en ocasiones otros)	Stat3
IL-10	JAK1 y Tyk-2	Stat3
IL-12	JAK2 y Tyk-2	Stat4

*A pesar de su nombre, Tyk-2 también es una cinasa Janus.

FUENTE: Adaptado de E. A. Bach, M. Aguet y R. D. Schreiber, 1997, *Annual Review of Immunology* **15:**563.

Se ha demostrado que además del IFN-γ, otros ligandos de clases I y II causan dimerización de sus receptores. Un elemento importante de la especificidad de citocinas deriva de la minuciosa especificidad de la concordancia entre citocinas y sus receptores. Otro aspecto de la especificidad de las citocinas es que cada citocina particular (o grupo de citocinas redundantes) induce la transcripción de un subconjunto específico de genes en un tipo de célula determinado; los productos génicos resultantes median a continuación los diversos efectos característicos de esa citocina. La especificidad de los efectos de las citocinas puede seguirse hasta tres factores. Primero, receptores de citocina particulares inician vías JAK-STAT particulares. Segundo, la actividad transcripcional de STAT activados es específica, dado que un homodímero o heterodímero STAT particular sólo reconoce ciertos elementos de secuencia y por consiguiente sólo puede interactuar con los promotores de ciertos genes. Tercero, sólo aquellos genes blanco cuya expresión es permitida por un tipo celular particular pueden ser activados dentro de esa variedad de células. Es decir, en cualquier tipo de célula determinado sólo puede expresarse un subconjunto de los posibles genes blanco de un STAT particular. Por ejemplo, IL-4 induce un grupo de genes en células T, otro en células B y un tercero más en eosinófilos.

Vale la pena mencionar que la IL-1 no señaliza a través de la vía de JAK-STAT sino que utiliza una cinasa que se designa cinasa relacionada con receptor de IL-1, o IRAK. Las proteínas IRAK también son utilizadas por TLR para la transducción de señales (fig. 3-14).

Antagonistas de citocinas

Se han notificado varias proteínas que inhiben la actividad biológica de citocinas. Estas proteínas actúan en una de dos formas: por unión directa a un receptor de citocina, pero sin activar la célula, o por unión directa a una citocina, con supresión de su actividad. El inhibidor mejor caracterizado es el antagonista del receptor IL-1 (IL-1Ra), que se une al receptor de IL-1 pero carece de actividad. La unión de IL-1Ra al receptor IL-1 bloquea la unión de IL-1α e IL-1β y explica en consecuencia sus propiedades antagonistas. Algunos investigadores piensan que la producción de IL-1Ra tiene un papel en la regulación de la intensidad de la respuesta inflamatoria. Se ha clonado y en la actualidad se investiga como un posible tratamiento de enfermedades inflamatorias crónicas.

Los inhibidores de citocinas se encuentran en el torrente sanguíneo y el líquido extracelular. Estos antagonistas solubles se originan de la escisión enzimática del dominio extracelular de receptores de citocina. Entre los receptores de citocina solubles identificados se encuentran los de IL-2, IL-4, IL-6 e IL-7, IFN-γ e IFN-α, TNF-β y LIF. De ellos, el receptor soluble de IL-2 (sIL-2R), que se libera en la activación crónica de las células T, es el mejor caracterizado. Un segmento que contiene los 192 aminoácidos del extremo amino terminal de la subunidad α se libera por escisión proteolítica, lo que crea un receptor soluble de IL-2 de 45 kDa. El receptor desprendido puede unirse a IL-2 y evitar la interacción de ésta con el receptor de IL-2 de membrana. La presencia de sIL-2R se ha utilizado como marcador clínico de activación crónica de células T y se observa en varios trastornos, como enfermedades autoinmunitarias, rechazo de trasplantes y SIDA.

Algunos virus han desarrollado estrategias para impedir la actividad de las citocinas. La evolución de tales estrategias anticitocina por patógenos microbianos es una prueba biológica de la importancia de las citocinas en la organización y promoción de inmunorreacciones antimicrobianas eficaces. Entre las diversas estrategias anticitocina usadas por los virus están

- Homólogos de citocina
- Productos solubles de unión a citocina
- Homólogos de receptores de citocina
- Interferencia en la señalización intracelular
- Interferencia con secreción de citocinas
- Inducción de inhibidores de citocina en la célula hospedadora

CUADRO 12-3 **Mimetismo vírico de citocinas y receptores de citocinas**

Virus	Productos
Leporipoxvirus (un virus de mixoma)	Receptor IFN-γ soluble
Varios poxvirus	Receptor IFN-γ soluble
Virus de las viruelas bovina y humana	Receptor IL-1β soluble
Epstein-Barr	Homólogo de IL-10
Virus del herpes humano 8	Homólogo de IL-6; también homólogos de las quimiocinas MIP-I y MIP-II
Citomegalovirus	Tres diferentes homólogos de receptor de quimiocina, uno de los cuales se une a tres quimiocinas solubles diferentes (RANTES, MCP-1 y MIP-1α)

El virus de Epstein-Barr (EBV) produce una molécula parecida a IL-10 (IL-10 vírica o vIL-10) que se une al receptor de IL-10 y, al igual que la IL-10 celular, anula las reacciones mediadas por células T_H tipo 1 (véase la sección siguiente), que son eficaces contra muchos parásitos intracelulares como los virus. Las moléculas víricas que simulan citocinas permiten que el virus manipule la respuesta inmunitaria en formas que ayudan a la supervivencia del patógeno. Esta forma de mimetismo es una modificación interesante y potente que experimentaron algunos virus en su lucha continua para vencer la barrera formidable de la inmunidad del hospedador. El EBV también produce un inductor de IL-1Ra, el antagonista del hospedador contra IL-1. Se ha demostrado que los poxvirus (virus de la viruela) codifican una proteína soluble de unión a TNF y una proteína soluble de unión a IL-1. Dado que tanto el TNF como la IL-1 exhiben un amplio espectro de actividades en la reacción inflamatoria, estas proteínas solubles de unión a citocina pueden impedir o disminuir los efectos inflamatorios de las citocinas, con lo que confieren al virus una ventaja selectiva. En el cuadro 12-3 se enumeran varios productos víricos que inhiben citocinas y sus actividades.

Secreción de citocinas por los subconjuntos T_H1 y T_H2

La reacción inmunitaria a un patógeno particular debe inducir un grupo apropiado de funciones efectoras que pueden eliminar al agente patológico o sus productos tóxicos del hospedador. Por ejemplo, la neutralización de una toxina bacteriana soluble requiere anticuerpos, en tanto que la respuesta a un virus intracelular o una célula bacteriana requiere citotoxicidad mediada por células o hipersensibilidad de tipo tardío. Un gran cúmulo de pruebas señala diferencias en los patrones de secreción de citocinas entre los subconjuntos de células T_H como determinantes del tipo de reacción inmunitaria precipitada contra un contacto antigénico particular.

Las células T_H CD4$^+$ ejercen la mayor parte de sus funciones colaboradoras a través de citocinas secretadas, que actúan en las células que las producen en una forma autocrina o modulan las respuestas de otras células a través de vías paracrinas. Aunque los CTL CD8$^+$ también secretan citocinas, el grupo de éstas suele ser más restringido que el de las células T_H CD4$^+$. Como se expone brevemente en el capítulo 10, es posible distinguir in vitro dos subpoblaciones de células T_H CD4$^+$, llamadas T_H1 y T_H2 por las citocinas que secretan. Ambos subconjuntos secretan IL-3 y GM-CSF pero difieren en las otras citocinas que producen (cuadro 12-4). Las células T_H1 y T_H2 se caracterizan por las diferencias funcionales siguientes:

- El subconjunto T_H1 tiene a su cargo muchas funciones mediadas por células (p. ej., hipersensibilidad de tipo tardío y activación de células T_C) y la producción de anticuerpos IgG que promueven la opsonización (es decir, anticuerpos que se unen a receptores Fc de alta afinidad de fagocitos e interactúan con el sistema de complemento). Este subconjunto también interviene en la promoción de inflamación y lesión tisular excesivas.
- El subconjunto T_H2 estimula la activación y diferenciación de eosinófilos, proporciona ayuda a células B y favorece la producción de cantidades relativamente grandes de IgM, IgE e isotipos de IgG que no activan complemento. El subconjunto T_H2 también sustenta reacciones alérgicas.

CUADRO 12-4 Secreción de citocina y principales funciones de subconjuntos T_H1 y T_H2 de ratón

	T_H1	T_H2
SECRECIÓN DE CITOCINA		
IL-2	+	–
IFN-γ	++	–
TNF-β	++	–
GM-CSF	++	+
IL-3	++	++
IL-4	–	++
IL-5	–	++
IL-10	–	++
IL-13	–	++
FUNCIONES		
Ayuda a la producción total de anticuerpo	+	++
Ayuda a la producción de IgE	–	++
Ayuda a la producción de IgG2a	++	+
Producción de eosinófilos y células cebadas	–	++
Activación de macrófagos	++	–
Hipersensibilidad de tipo tardío	++	–
Activación de célula T_C	++	–

FUENTE: Adaptado de F. Powrie y R. L. Coffman, 1993, *Immunology Today* **14:**270.

Las diferencias en las citocinas secretadas por células T_H1 y T_H2 determinan las distintas funciones biológicas de estos dos subconjuntos. Una citocina representativa del subconjunto T_H1, IFN-γ, activa macrófagos y estimula estas células para incrementar la actividad microbicida, aumenta la concentración de MHC clase II y secreta citocinas como IL-12 que inducen a las células T_H a diferenciarse en el subconjunto T_H1. La secreción de IFN-γ por células T_H1 también induce el cambio de clase de anticuerpo a clases de IgG (como IgG2a en el ratón) que apoyan la fagocitosis y la fijación de complemento. El TNF-β y el INF-γ son citocinas que median la inflamación, y su secreción es parte del aporte de las células de T_H1 a fenómenos inflamatorios como la hipersensibilidad tardía (cap. 15). Las células T_H1 producen las citocinas IL-2 e IFN-γ que promueven la diferenciación de células T_C por completo citotóxicas a partir de precursores CD8$^+$. Este patrón de producción de citocinas determina que el subconjunto T_H1 sea en particular adecuado para responder a infecciones víricas y patógenos intracelulares. Por último, el IFN-γ inhibe la expansión de la población T_H2.

La secreción de IL-4 e IL-5 por células del subconjunto T_H2 induce la producción de IgE y confiere sustento al ataque mediado por eosinófilos en infestaciones helmínticas (por gusanos redondos). La IL-4 promueve un patrón de cambio de clase que produce IgG que no activa la vía del complemento (p. ej., IgG1 en ratones). La IL-4 también aumenta el grado al cual cambian las células B de IgM a IgE. Este efecto en la producción de IgE se mezcla con la diferenciación y activación de eosinófilos por IL-5, ya que los eosinófilos están dotados en abundancia de receptores $Fc\epsilon$, que unen IgE. De manera característica, las infecciones por gusanos redondos inducen respuestas de T_H2 y originan anticuerpo IgE antihelmintos. El anticuerpo unido a gusanos se une a los receptores Fc de eosinófilos y forma así un puente específico de antígeno entre el gusano y los eosinófilos. El ataque de estos últimos al helminto es desencadenado por el enlace cruzado de la IgE unida a $Fc\epsilon$. Junto con estas acciones benéficas de la IgE, la clase de Ig también es la que causa la alergia. Por último, IL-4 e IL-10 suprimen la expansión de poblaciones de células T_H1.

Debido a que los subconjuntos T_H1 y T_H2 se identificaron originalmente en cultivos prolongados in vitro de líneas de células T clonadas, algunos investigadores pusieron en duda que representaran subpoblaciones verdaderas in vivo. Por el contrario, sugirieron que estos subconjuntos podrían representar diferentes etapas de maduración de un linaje aislado. Asimismo, la incapacidad inicial de localizar cualquier subconjunto en el ser humano condujo a algunos autores a pensar que T_H1, T_H2 y otros subconjuntos de células T colaboradores no se hallaban en esta especie. Investigaciones más amplias corrigieron estos conceptos. En muchos sistemas in vivo, el compromiso pleno de poblaciones de células T con los fenotipos T_H1 o T_H2 señala con frecuencia el punto final de una infección o alergia crónica. Por ello fue difícil encontrar subconjuntos claros de T_H1 o T_H2 en estudios en los que se utilizaron seres humanos sanos, quienes tal vez no se hallarían en esta etapa de una respuesta. Experimentos con ratones transgénicos demostraron sin lugar a dudas que las células T_H1 y T_H2 surgen de manera independiente. Más aún, fue posible demostrar poblaciones de T_H1 o T_H2 en células T aisladas de personas durante una enfermedad infecciosa crónica o episodios crónicos de alergias. Es importante asimismo resaltar que muchas células T colaboradoras no muestran un perfil T_H1 o T_H2; células individuales han mostrado heterogeneidad notable en la población de células T_H.

Múltiples informes de estudios en ratones y seres humanos comprueban en la actualidad que el resultado final in vivo de la reacción inmunitaria puede ser influido en grado determinante por las concentraciones relativas de actividad tipo T_H1 o T_H2. De manera característica, el perfil T_H1 de citocinas es más alto en respuesta a patógenos intracelulares, y el perfil T_H2 lo es en enfermedades alérgicas e infecciones helmínticas.

El desarrollo de los subconjuntos T_H1 y T_H2 depende del ambiente de las citocinas

El ambiente de las citocinas en el que se diferencian las células T_H cebadas con antígeno determina el subconjunto que se desarrolla (fig. 12-12). En particular, la IL-4 es esencial en el desarrollo de una respuesta T_H2, e IFN-γ, IL-12 e IL-18 son importantes en la fisiología del desarrollo de las células T_H1. El desarrollo de T_H1 depende de modo crítico del IFN-γ, que induce varios cambios, entre ellos aumento de la producción de IL-12 por macrófagos y células dendríticas y activación del receptor IL-12 en células T activadas, que ocurren al incrementar la expresión de la cadena β del receptor IL-12. Al inicio de una reacción inmunitaria se genera IFN-γ por estimulación de células T y también puede provenir de células NK activadas. La IL-12, uno de los mediadores fundamentales de la diferenciación de T_H1, procede de manera típica de macrófagos o células dendríticas activadas por un encuentro con bacterias intracelulares, productos bacterianos como LPS u otros parásitos intracelulares. Otra citocina más, IL-18, promueve la proliferación y producción de IFN-γ por células T_H1 y células NK en desarrollo y del todo diferenciadas. En consecuencia, una red reguladora de citocinas controla de manera positiva la generación de células T_H1. El papel esencial de cada una de estas citocinas y sus receptores se demostró en una serie de experimentos en los que se desactivaron los genes que codifican la citocina o su receptor. Estos ratones no crearon poblaciones de células T_H1.

En estudios recientes se descubrieron dos nuevas citocinas de la familia IL-12, a saber IL-23 e IL-27, con importantes implicaciones para el desarrollo de las células T_H1. La IL-23 tiene una cadena en común con la IL-12 (IL-12 p40), y las dos cadenas del heterodímero IL-27 se relacionan con las de IL-12. IL-23 e IL-27 comparten funciones con IL-12; todas participan en la diferenciación que conduce al subconjunto T_H1, y algunas actividades tradicionalmente atribuidas a la IL-12 podrían ser el resultado de la acción de IL-23 sola o de manera sinérgica con IL-12.

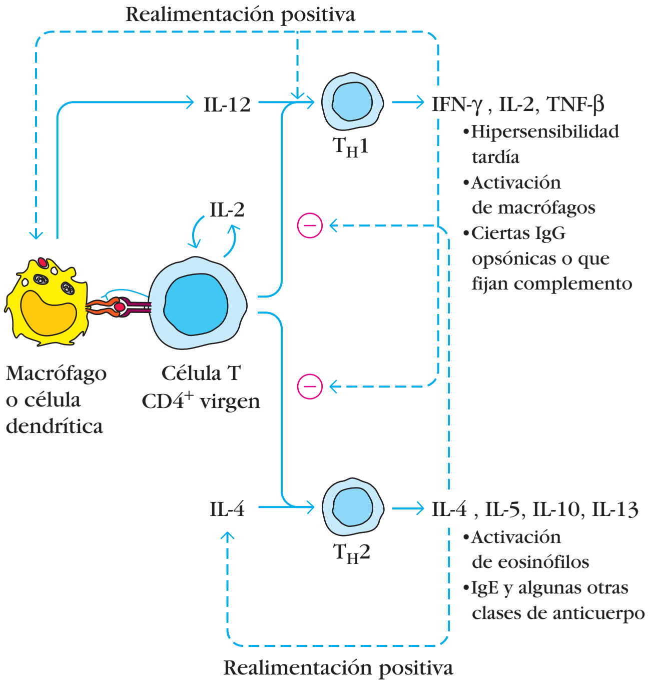

Realimentación positiva
IL-12
T_H1
IFN-γ , IL-2, TNF-β
•Hipersensibilidad tardía
•Activación de macrófagos
•Ciertas IgG opsónicas o que fijan complemento
IL-2
−
−
Macrófago o célula dendrítica
Célula T CD4$^+$ virgen
IL-4
T_H2
IL-4 , IL-5, IL-10, IL-13
•Activación de eosinófilos
•IgE y algunas otras clases de anticuerpo
Realimentación positiva

FIGURA 12-12 Generación y regulación cruzada de subconjuntos T_H mediadas por citocinas. La célula T CD4$^+$ virgen activada por antígeno produce IL-2 y prolifera. Cuando prolifera en un ambiente dominado por IL-12, genera una población de células T_H1 que secreta un perfil característico de citocinas, incluido IFN-γ. Se establece un ciclo de realimentación positiva cuando el IFN-γ secretado por la población T_H1 en expansión estimula células dendríticas o macrófagos para que produzcan más IL-12. Si el ambiente está dominado por IL-4, surge una población T_H2 y secreta un perfil de citocinas que promueve la activación de eosinófilos y la síntesis de ciertas clases de anticuerpo. Las citocinas fundamentales producidas por cada subconjunto regulan de manera positiva el subconjunto que las produce y de modo negativo el otro subconjunto. *[Adaptada de J. Rengarajan, S. Szabo y L. Glimcher, 2000,* Immunology Today ***21****:479.]*

Del mismo modo en que las células T_H1 requieren IL-12 e IFN-γ, la generación de células T_H2 depende en esencia de IL-4. La exposición de células colaboradoras vírgenes a IL-4 al inicio de una respuesta inmunitaria establece que se diferencien en células T_H2. De hecho, esta influencia de IL-4 es predominante para dirigir las células T_H a la vía T_H2. A condición de que exista un valor umbral de IL-4, se favorece de manera considerable el desarrollo de T_H2 sobre el de T_H1, incluso cuando están presentes IFN-γ e IL-12. Se ha demostrado la vital función de las señales de IL-4 en el desarrollo de T_H2 tras observar que la desactivación del gen que codifica IL-4 previene el desarrollo de estos subconjuntos de célula T. Pruebas adicionales que apoyan el papel central de la IL-4 provienen de un experimento que interrumpió la vía de transducción de señales de IL-4. Al igual que muchas otras citocinas, IL-4 utiliza una vía que incluye proteínas JAK y STAT. El factor de transcripción Stat6 es el que se activa en la señalización por IL-4. Así, en ratones en los que se desactivó el gen para Stat6, se inhibieron gravemente o se suprimieron los procesos mediados por IL-4. La observación de que los ratones modificados Stat6 tienen muy pocas células T_H2 confirma la importancia de IL-4 para la diferenciación de este subconjunto. De modo similar, la desintegración de Stat1, que es activada por IFN-γ, interfiere en el desarrollo de las células T_H1.

Los perfiles de citocinas son regulados de manera cruzada

Las citocinas críticas producidas por los subconjuntos T_H1 y T_H2 tienen dos efectos característicos en el desarrollo del subconjunto. Primero, promueven el crecimiento del subconjunto que las produce; segundo, inician el desarrollo y la actividad del subconjunto opuesto, un efecto que se conoce como regulación cruzada (fig. 12-12). Por ejemplo, el IFN-γ (que el subconjunto T_H1 secreta) inhibe de manera preferencial la proliferación del subconjunto T_H2; e IL-4 e IL-10 (secretadas por el subconjunto T_H2) disminuyen la secreción de IL-12, una de las citocinas críticas para la diferenciación de T_H1, sea por macrófagos o células dendríticas. De igual forma, estas citocinas tienen efectos opuestos en las células blanco en comparación con los subconjuntos T_H. En ratones, la especie en que los subconjuntos T_H1 y T_H2 se han estudiado más extensamente, el IFN-γ secretado por el subconjunto T_H1 promueve la producción de IgG2a por células B pero inhibe la producción de IgG1 e IgE. Por otra parte, la IL-4 secretada por el subconjunto T_H2 promueve la producción de IgG1 e IgE y suprime la de IgG2a. De este modo, de las respuestas de T_H1 y T_H2 resultan diferentes perfiles de anticuerpos. El fenómeno de regulación cruzada explica por qué es frecuente observar una relación inversa entre la producción de anticuerpo y la inmunidad mediada por células; es decir, cuando la producción de anticuerpo es alta, la inmunidad mediada por células es baja, y viceversa. Más aún, investigaciones recientes demostraron que IL-4 e IFN-γ determinan que los miembros del subconjunto de células T que las libera reaccionen al menos a la citocina que dirige la diferenciación del otro subconjunto de células T. Por consiguiente, IL-4 aumenta el desarrollo de células T_H2 y torna a las células T_H menos susceptibles a las señales de citocinas que establecen que estas células entren en la vía de diferenciación que podría conducir al desarrollo de T_H1. Pero, como se explica más adelante, el IFN-γ incrementa la expresión de la molécula reguladora fundamental que promueve la diferenciación y actividad de células T_H1.

Un tercer subconjunto de células T $CD4^+$ ejerce control regulatorio de las reacciones de células T y puede limitar la actividad autoinmunitaria de éstas. Este subconjunto de células T, llamado de células T_{reg}, se caracteriza por la expresión de IL-4, IL-10 y TGF-β y ejerce su efecto supresor a través del contacto con las células T blanco. En la actualidad son objeto de estudio los detalles de la vía del desarrollo que conduce a las células T_{reg}.

Trabajos recientes han suministrado información acerca de la base molecular de la regulación cruzada mediada por citocinas mediante la cual un subconjunto promueve su expansión o desarrollo propios al tiempo que inhibe el desarrollo del subconjunto opuesto. Dos factores de transcripción, T-Bet y GATA-3, son elementos fundamentales en la determinación del compromiso del subconjunto y la regulación cruzada. La expresión de T-Bet impulsa las células a diferenciarse en células T_H1 y suprime su diferenciación a lo largo de la vía T_H2. La expresión de GATA-3 lleva a cabo lo opuesto y favorece el desarrollo de células T vírgenes en células T_H2 mientras anula su diferenciación en células T_H1. Como se muestra en la figura 12-13, las citocinas IFN-γ e IL-4 determinan la expresión de T-Bet comparada con GATA-3. En presencia de IFN-γ las células incrementan la expresión de T-Bet y disminuyen la de GATA-3. Este proceso dependiente de receptor de IFN-γ/Stat1 cambia el perfil de citocinas a la producción de IFN-γ —la citocina típica de las células T_H1— y otras citocinas características del grupo T_H1. Pero en un proceso que incluye el receptor de IL-4 y Stat6, IL-4 induce a la célula a producir IL-4 y otras citocinas T_H2. Un estudio más amplio reveló que el aumento de T-Bet reduce la expresión de GATA-3. De igual forma, la expresión de GATA-3 reduce T-Bet. En consecuencia, las señales de citocinas que inducen uno de estos factores de transcripción ponen en marcha una cadena de fenómenos que inhiben la otra. A nivel intracelular, la diferenciación de una célula T a lo largo de su vía T_H1 impide su desarrollo de características T_H2 y viceversa.

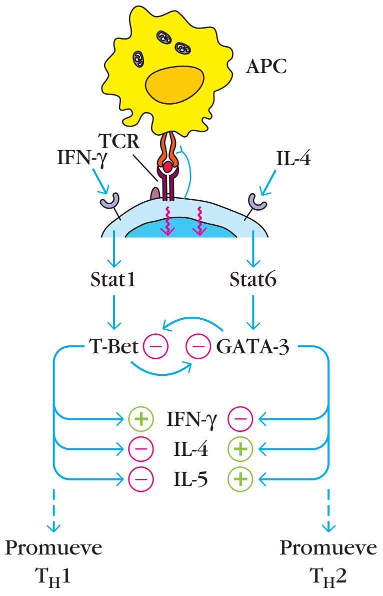


FIGURA 12-13 Regulación cruzada de la concentración intracelular. Las señales a través de TCR y receptores de citocina determinan si la célula produce el factor de transcripción que promueve T_H1, T-Bet, o el factor de transcripción que promueve T_H2, GATA-3. Pruebas experimentales apoyan un modelo en el cual la exposición a IFN-γ de células que portan receptores para IFN-γ induce la formación de T-Bet, que aumenta la síntesis de IFN-γ y reduce la expresión de GATA-3. La exposición a IL-4 de células que portan IL-4R da lugar a la formación de GATA-3, que aumenta la síntesis de IL-4 e IL-5 pero reduce la expresión de T-Bet. *[Adaptada de J. Rengarajan, S. Szabo y L. Glimcher, 2000,* Immunology Today ***21****:479.]*

La regulación cruzada de células T_H1 por IL-10 secretadas por células T_H2 no es una inhibición directa de las células T_H1; por el contrario, IL-10 actúa en monocitos y macrófagos e interfiere en su capacidad de activar el subconjunto T_H1. Se piensa que esta interferencia resulta de la capacidad demostrada de IL-10 de disminuir la expresión de moléculas MHC clase II en estas células presentadoras de antígeno. IL-10 tiene otros efectos inmunosupresores potentes en el linaje de monocitos y macrófagos, como anular la producción de óxido nítrico y otros metabolitos bactericidas que participan en la destrucción de patógenos, y suprimir la producción de varios mediadores de la inflamación (p. ej., IL-1, IL-6, IL-8, GM-CSF, G-CSF y TNF-γ). Estos efectos supresores sobre el macrófago sirven para disminuir de manera adicional las consecuencias biológicas de la activación de T_H1.

El balance T_H1/T_H2 determina los resultados finales de una enfermedad

La progresión de algunas enfermedades puede depender del equilibrio entre los subconjuntos T_H1 y T_H2. En el ser humano, un ejemplo bien estudiado de este fenómeno es la lepra, causada por *Mycobacterium leprae*, un patógeno intracelular que puede sobrevivir dentro de los fagosomas de macrófagos. La lepra no es una entidad clínica aislada; por el contrario, presenta una gama de respuestas clínicas, con dos formas principales de la afección, tuberculoide y lepromatosa, en cada extremo del espectro. En la **lepra tuberculoide**, una reacción inmunitaria mediada por células forma granulomas cuya consecuencia es la destrucción de la mayor parte de las micobacterias, de tal manera que sólo permanecen unos cuantos microorganismos en el tejido. Aunque se dañan la piel y los nervios periféricos, la lepra tuberculoide avanza con lentitud y los pacientes suelen sobrevivir. En la **lepra lepromatosa** está deprimida la respuesta mediada por células y en lugar de ella se forman anticuerpos humorales que en ocasiones tienen como resultado hipergammaglobulinemia. Las micobacterias están diseminadas de forma amplia en macrófagos y con frecuencia alcanzan cifras tan altas como 10^{10} por gramo de tejido. La forma lepromatosa avanza a la infección diseminada de huesos y cartílagos con daño neural extenso.

El desarrollo de las variantes lepromatosa o tuberculoide depende del balance de células T_H1 y T_H2 (fig. 12-14). En la lepra tuberculoide, la reacción inmunitaria se caracteriza por una respuesta tipo T_H1 con hipersensibilidad tardía y un perfil de citocinas que consiste en valores altos de IL-2, IFN-γ y TNF-β. En la forma lepromatosa se reconoce una reacción inmunitaria tipo T_H2, con valores altos de IL-4, IL-5 e IL-10. Este perfil de citocinas explica el descenso de la inmunidad mediada por células y el incremento de la producción de anticuerpo sérico en la lepra lepromatosa.

Asimismo, existen pruebas de cambios de la actividad del subconjunto T_H en el SIDA. Al inicio de la enfermedad es elevada la actividad de T_H1, pero algunos investigadores han sugerido que a medida que el síndrome avanza puede observarse un cambio de una respuesta tipo T_H1 a otra tipo T_H2. Además, algunos patógenos pueden influir en la actividad de los subconjuntos T_H. Por ejemplo, el virus de Epstein-Barr produce un homólogo de la IL-10 humana llamado vIL-10, que tiene actividad semejante a la de IL-10. Esta imitación vírica, como la IL-10 celular, tiende a suprimir la actividad de T_H1 por regulación cruzada. Algunos científicos han conjeturado que vIL-10 puede atenuar la reacción mediada por células al virus de Epstein-Barr y conferir de este modo una ventaja de supervivencia al virus.

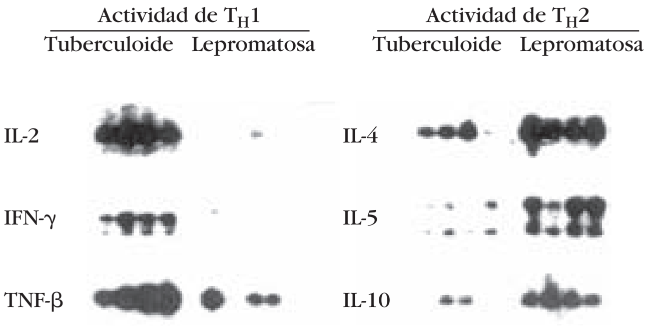


FIGURA 12-14 Correlación entre el tipo de lepra y la actividad relativa de T_H1 o T_H2. Se analizó RNA mensajero aislado de lesiones de pacientes con lepra tuberculoide y lepromatosa mediante Southern blotting y las sondas de citocina indicadas. En pacientes con lepra tuberculoide predominan las citocinas producidas por células T_H1, en tanto que en enfermos con la variedad lepromatosa predominan citocinas producidas por células T_H2. *[Tomada de P. A. Sieling y R. L. Modlin, 1994,* Immunobiology ***191****:378.]*

Enfermedades relacionadas con citocinas

En varios padecimientos se han referido defectos de las redes reguladoras complejas que rigen la expresión de citocinas y sus receptores. Los defectos genéticos en las citocinas, sus receptores o las moléculas implicadas en la transducción de señales después de la interacción entre receptor y citocina provocan inmunodeficiencias como la inmunodeficiencia combinada grave (SCID), que se describe en el capítulo 20. Otros defectos en la red de citocinas pueden causar incapacidad de defenderse contra familias específicas de patógenos. Por ejemplo, las personas con un receptor defectuoso de IFN-γ son susceptibles a infecciones micobacterianas que rara vez ocurren en la población normal. Además de las enfermedades que tienen sus raíces en defectos genéticos de la actividad de citocina, varias afecciones resultan de la expresión excesiva o disminuida de citocinas o sus receptores. Enseguida se presentan algunos ejemplos de estas enfermedades, seguidos de una exposición de tratamientos encaminados a prevenir el daño potencial causado por la actividad de las citocinas.

El choque séptico es común y potencialmente letal

A pesar del uso generalizado de antibióticos, las infecciones bacterianas siguen siendo una causa importante de choque séptico, el cual puede presentarse pocas horas después de la infección por ciertas bacterias gramnegativas, como *E. coli, Klebsiella* *pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Enterobacter aerogenes* y *Neisseria meningitidis*. Los síntomas del choque séptico bacteriano, que a menudo es letal, incluyen descenso de la presión arterial, fiebre, diarrea y coagulación sanguínea diseminada en varios órganos.

Al parecer el choque séptico bacteriano se presenta porque las **endotoxinas** de la pared de la célula bacteriana estimulan la producción excesiva de IL-1 y TNF-α por macrófagos en concentraciones que provocan choque séptico. Por ejemplo, en un estudio se encontraron valores más altos de TNF-α en pacientes que murieron de meningitis en comparación con los que se recuperaron. Más aún, es posible producir un padecimiento similar al choque séptico bacteriano si se inyecta TNF-α recombinante a ratones sin infección bacteriana gramnegativa. Varios estudios ofrecen cierta esperanza de que la neutralización de la actividad de TNF-α o IL-1 con anticuerpos monoclonales o antagonistas evite el desarrollo de este choque letal. En un estudio, el anticuerpo monoclonal TNF-α protegió a los animales del choque inducido por endotoxinas. Otra investigación demostró que la inyección de un antagonista del receptor de IL-1 recombinante (IL-1Ra), que previene la unión de IL-1 al receptor de IL-1, tuvo como resultado una reducción de la mortalidad a un tercio. Sin embargo, la neutralización del TNF-α no revierte el avance del choque séptico en todos los casos, y los anticuerpos contra TNF-α son de escaso beneficio en pacientes con enfermedad avanzada. Estudios recientes en los cuales los perfiles de citocina en pacientes con choque séptico se vigilaron en el transcurso del tiempo arrojan alguna luz sobre esta aparente paradoja.

El choque séptico bacteriano es una de las afecciones que se ajustan al encabezado general de sepsis, la cual puede ser causada no sólo por infección bacteriana sino también por traumatismo, lesión, isquemia (decremento del riego sanguíneo a un órgano o tejido) y determinados cánceres. La sepsis es la causa más común de muerte en salas de cuidados intensivos de hospitales de Estados Unidos, y provoca 9.3% de las muertes totales en ese país. Es la tercera causa más importante de muerte en los países desarrollados. Una característica en común de la sepsis de cualquier causa es la producción abrumadora de citocinas proinflamatorias como TNF-α e IL-1β. El desequilibrio de citocinas a menudo ocasiona una anormalidad grave de la temperatura corporal y la frecuencia respiratoria así como recuentos elevados de leucocitos, seguidos de derrame capilar, lesión tisular y falla orgánica letal.

Los aumentos de TNF-α e IL-1 son rápidos al principio de la sepsis, de modo que la neutralización de estas citocinas tiene su mayor beneficio en una fase temprana del proceso. En experimentos con animales, la intervención temprana incluso puede prevenir la sepsis. Sin embargo, unas 24 h después del inicio de ésta, las concentraciones de TNF-α e IL-1 caen de modo impresionante, y otros factores adquieren relevancia. Entre las citocinas que pueden ser críticas en etapas ulteriores se incluyen IL-6, MIF e IL-8. La sepsis sigue siendo un campo de intensa investigación, y puede esperarse que al comprender el proceso implicado en el choque séptico bacteriano y otras formas de sepsis se desarrollen tratamientos para esta importante causa de muerte.

El choque tóxico bacteriano se debe a superantígenos

Una diversidad de microorganismos liberan toxinas que actúan como **superantígenos**. Como se describe en el capítulo 10, los superantígenos se unen de manera simultánea a una molécula MHC clase II y al dominio V_β del receptor de la célula T y activan todas las células T que llevan un dominio V_β particular (fig. 10-16). Debido a su capacidad de unión única, los superantígenos pueden activar grandes cantidades de células T independientemente de su especificidad antigénica.

Aunque menos de 0.01% de las células T reacciona a un antígeno ordinario determinado, 5% o más de las células T puede reaccionar a un superantígeno particular. La gran proporción de células T reactivas a un superantígeno específico resulta de la cifra limitada de genes V_β de TCR que existen en la línea germinal. Por ejemplo, los ratones tienen alrededor de 20 genes V_β. Si se supone que cada gen V_β se expresa con igual frecuencia, entonces cabría esperar que cada superantígeno interactuara con una de cada 20 células T, esto es, 5% de la población total de las células T.

Algunos superantígenos bacterianos se han considerado agentes causales de varias enfermedades, como el choque tóxico bacteriano y la intoxicación alimentaria. Entre estos superantígenos bacterianos se incluyen varias enterotoxinas, toxinas exfoliadoras, toxina del síndrome de choque tóxico (TSST1) por *Staphylococcus aureus*, exotoxinas pirógenas de *Streptococcus pyrogenes* y sobrenadante de *Mycoplasma arthritidis* (MAS). El gran número de células T activadas por estos superantígenos crea una producción excesiva de citocinas. Por ejemplo, se ha demostrado que la toxina del síndrome de choque tóxico induce concentraciones en extremo altas de TNF-α e IL-1. Tal y como se observa en el choque séptico bacteriano, estas concentraciones elevadas de citocinas pueden precipitar reacciones sistémicas que incluyen fiebre, coagulación sanguínea diseminada y choque.

La actividad de las citocinas se relaciona con los cánceres linfoide y mieloide

Las anormalidades de la producción de citocinas o sus receptores se han relacionado con algunos tipos de cáncer. Por ejemplo, las células del mixoma cardíaco (un tumor benigno del corazón), el mieloma y el plasmacitoma y las del cáncer cervical y vesical secretan concentraciones anormalmente elevadas de IL-6. En las células del mieloma, al parecer la IL-6 opera en forma autocrina para estimular la proliferación celular. Cuando se añaden anticuerpos monoclonales contra IL-6 a cultivos de células de mieloma in vitro, se inhibe su crecimiento. Además, se ha observado que los ratones transgénicos que expresan valores altos de IL-6 muestran una proliferación masiva y letal de células plasmáticas conocida como plasmacitosis. Aunque estas células plasmáticas no son malignas, su índice alto de proliferación contribuye quizá al desarrollo de cáncer.

La enfermedad de Chagas es causada por un parásito

El protozoario *Trypanosoma cruzi* es el agente causal de la enfermedad de Chagas, que se caracteriza por supresión inmunitaria grave. La capacidad de *T. cruzi* de mediar la supresión inmunitaria puede observarse en cultivos de células T de sangre periférica en presencia y ausencia del protozoario, con la posterior valoración de su reactividad inmunitaria. En condiciones normales, antígeno, mitógeno o anticuerpo monoclonal anti-CD3 pueden activar células T periféricas, pero en presencia de *T. cruzi* no se activan células T por acción de ninguno de estos agentes. El defecto en estos linfocitos se rastreó hasta una reducción notable de la expresión de la subunidad α de 55 kDa del receptor de IL-2 (CD25). Como ya se dijo, el receptor de IL-2 de alta afinidad contiene subunidades α, β y γ. La subunidad α es específica para la unión de citocina (fig. 12-9). El cultivo concurrente de células T con *T. cruzi* y la tinción posterior con anti-CD25 marcado con fluoresceína, que se une a la subunidad α, revelaron una disminución de 90% en la concentración de esta subunidad.

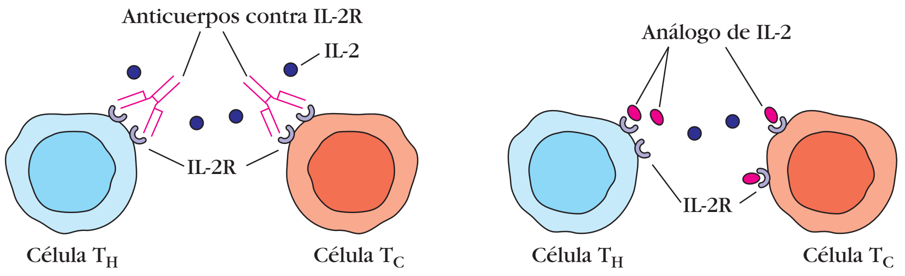
Aunque aún se desconoce el mecanismo por el cual *T. cruzi* suprime la expresión de la subunidad α, es posible inducir la supresión con un filtro que impide el contacto entre linfocitos y protozoarios. Este resultado sugiere que un factor difusible media la supresión. Una vez que se aísle este factor, podría tener múltiples aplicaciones clínicas para regular la cantidad de células T activadas en leucemias o enfermedades autoinmunitarias.

Tratamientos basados en citocinas

La disponibilidad de citocinas clonadas y purificadas y receptores solubles de citocinas ofrece la posibilidad de intentar tratamientos clínicos específicos para modular la reacción inmunitaria. Se ha demostrado que unos pocos tratamientos basados en citocinas —en especial interferones (véase el enfoque clínico más adelante); factores estimulantes de colonias, como GM-CSF; y bloqueadores de la actividad de TNF— tienen utilidad terapéutica en determinadas enfermedades. Sin embargo, a pesar de su gran potencial, el tratamiento basado en citocinas no ha sido exitoso en todas las aplicaciones. Como se expuso antes, el uso de bloqueadores del TNF-α no es un remedio universal para el choque séptico porque éste no es mediado sólo por TNF-α. En contraste, para tratar la artritis reumatoide en más de un millón de pacientes se han usado un receptor soluble de TNF-α y anticuerpos monoclonales contra TNF-α. Estos agentes anti-TNF-α reducen las cascadas de citocinas proinflamatorias y la reacción inflamatoria resultante. Para quienes padecen artritis reumatoide, los fármacos reducen el dolor, la rigidez y la tumefacción articulares y promueven la curación y la reparación de los tejidos. Pero este tratamiento conlleva un mayor riesgo de infección, en especial tuberculosis y neumonía, en virtud de la menor actividad de citocina. El riesgo de linfoma también aumenta entre quienes usan bloqueadores de TNF-α a largo plazo.

Han surgido problemas en el proceso de adaptar las citocinas para su uso médico sistemático seguro. Uno es la conservación de valores posológicos eficaces por un período clínicamente significativo. Durante una reacción inmunitaria, las células que interactúan producen concentraciones suficientes de citocinas en la vecindad de las células blanco, pero es difícil lograr estas concentraciones locales cuando es necesario administrar las citocinas de modo sistémico para tratamiento clínico. Además, con frecuencia las citocinas tienen vida media muy corta, de tal manera que quizá sea necesaria la administración continua. Por ejemplo, la IL-2 humana recombinante posee vida media de sólo siete a 10 minutos cuando se administra por vía intravenosa. Por último, las citocinas son modificadores de la respuesta biológica en extremo potentes y pueden causar efectos secundarios impredecibles e indeseables. Por ejemplo, los efectos secundarios de la administración de IL-2 recombinante varían de leves (fiebre, escalofrío, diarrea y aumento de peso) a graves (anemia, trombocitopenia, choque, insuficiencia respiratoria y coma). A pesar

a) Supresión de la proliferación de células T_H y activación de células T_C



b) Destrucción de células T_H activadas

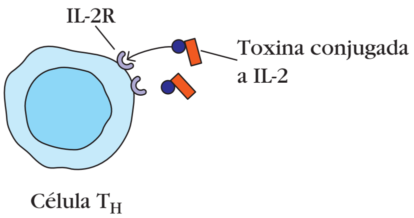


FIGURA 12-15 Agentes terapéuticos experimentales relacionados con citocinas ofrecen la posibilidad de modular de modo selectivo la reacción inmunitaria. a) El anticuerpo monoclonal anti-IL-2R se une al receptor de citocina (IL-2R) en la superficie celular y de este modo previene la interacción de la citocina con su receptor. b) La conjugación de una toxina con una citocina da por resultado la destrucción de células que expresan el receptor de citocina.

de estas dificultades, un ensayo multinacional con IL-2 recombinante ha tenido éxito preliminar para restablecer las concentraciones de células T CD4$^+$ en pacientes con SIDA (cap. 20). La citocina se administra por vía subcutánea a diario por cinco días cada ocho semanas en pacientes que de manera simultánea reciben antirretrovíricos. El aumento en los valores de células T CD4$^+$ se mantuvo por períodos más largos en quienes recibieron IL-2 comparados con los sometidos a tratamiento antirretrovírico solo. El grupo con IL-2 también presentó aumentos en un subconjunto de células CD8$^+$ que tiene actividad antivírica, pero no mostró citotoxicidad contra las células infectadas por VIH. Los efectos secundarios de la IL-2 administrada en este régimen fueron mínimos, principalmente síntomas parecidos a los del resfriado y dolor en el sitio de inyección.

Otros enfoques para el uso médico de citocinas incluyen bloqueo de receptores de citocina y administración de análogos de citocina y conjugados citocina-toxina. Por ejemplo, es posible bloquear la proliferación de células T_H activadas y la activación de células T_C mediante anti-CD25, el anticuerpo monoclonal que se une a la subunidad α del receptor de IL-2 de alta afinidad (fig. 12-15a). La administración de anti-CD25 ha prolongado la supervivencia de trasplantes de corazón en ratas. También se ha usado anti-CD25 para la leucemia de células T del adulto, que puede deberse a infección por el retrovirus humano HTLV-1 y se caracteriza por la proliferación de una población de células T que expresa IL-2Ra en cantidades anormalmente altas. Se obtuvieron resultados similares con análogos de IL-2 que conservan su capacidad de unir el receptor IL-2, pero perdieron su actividad biológica (fig. 12-15a). Estos análogos se produjeron mediante mutagénesis dirigida al sitio de genes IL-2 clonados. Por último, se demostró que las citocinas conjugadas con diversas toxinas (p. ej., la cadena β de la toxina diftérica) atenúan el rechazo de trasplantes de riñón y corazón en animales. Estos conjugados que contienen IL-2 se unen de forma selectiva a células T_H activadas y las destruyen (fig. 12-15b).

El uso de citocinas en medicina clínica es muy promisorio, y los esfuerzos por desarrollar estrategias seguras y eficaces relacionadas con citocinas continúan, en particular en áreas como inflamación, tratamiento del cáncer y modificación de la inmunorreacción durante trasplante de órganos, infecciones y alergia.

Citocinas en la hematopoyesis

Los trabajos iniciales en Australia e Israel demostraron que los factores solubles podrían apoyar el crecimiento y diferenciación de los glóbulos rojos y blancos. El primero de estos factores solubles que se caracterizó, la eritropoyetina, se aisló de la orina de pacientes anémicos y se demostró que sustentaba el desarrollo de los glóbulos rojos. Después se probó que muchas citocinas tenían acciones esenciales en la hematopoyesis (cuadro 12-5).

CUADRO 12-5 Citocinas hematopoyéticas

Factor de crecimiento hematopoyético	Sitios de producción	Principales funciones
Eritropoyetina	Riñón, hígado	Producción de eritrocitos
G-CSF	Células endoteliales, fibroblastos, macrófagos	Producción de neutrófilos
Trombopoyetina	Hígado, riñón	Producción de plaquetas
M-CSF	Fibroblastos, células endoteliales, macrófagos	Producción de macrófagos y osteoclastos
Ligando SCF/c-*kit*	Células estromales de la médula ósea, de modo constitutivo	Células madre, supervivencia/división de células progenitoras; diferenciación de células cebadas
Ligando Flt-3	Fibroblastos, células endoteliales	Expansión de célula progenitora temprana; células pre-B
GM-CSF	Células T (T_H1 y T_H2), macrófagos, células cebadas	Producción de macrófagos, granulocitos; maduración y activación de células dendríticas
IL-3	Células T (T_H1 y T_H2), macrófagos	Crecimiento de células madre y células progenitoras mieloides; células cebadas
IL-5	Células T colaboradoras activadas, sólo respuesta de T_H2	Producción de eosinófilos, crecimiento de célula B murina
IL-6	Células T activadas, monocitos, fibroblastos, células endoteliales	Estimulación de célula progenitora; producción de plaquetas; producción de inmunoglobulina en células B
IL-7	Médula ósea y células estromales linfoides	Supervivencia de células T
IL-11	Células estromales de la médula ósea y fibroblastos estimulados por IL-1	Factor de crecimiento para megacariocitos

G-GSF, factor estimulante de colonias de granulocitos; GM-CSF, factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos; IL, interleucina; M-CSF, factor estimulante de colonias de macrófagos; SCF, factor de célula madre. Adaptado de Thomas D y Lopez A. *Encyclopedia of Life Sciences:* Haematopoietic growth factors, Nature Publishing Group, 2001.

ENFOQUE CLÍNICO

Terapéutica con interferones

Los interferones son un grupo extraordinario de proteínas cuya actividad antivírica condujo a su descubrimiento hace casi 50 años. Estudios subsecuentes demostraron que los interferones poseen otros efectos, que incluyen la capacidad de inducir diferenciación celular, inhibir la proliferación de ciertos tipos de células, impedir la angiogénesis y funcionar en diversas acciones inmunorreguladoras. Son importantes y notables sus efectos en el sistema inmunitario. Los interferones precipitan un aumento de la expresión de moléculas MHC clases I y II y la actividad de las células asesinas naturales (NK). La mayor expresión de clase I incrementa la presentación de antígeno a células CD8^{+}, una clase que incluye la mayor parte de la población T_C. Esta mejoría de la presentación de antígeno no sólo hace que las células presentadoras de antígeno sean más eficaces para inducir poblaciones de células T citotóxicas, sino que también las hace blancos más adecuados para el ataque por células T_C. Además de acentuar la expresión de MHC clase I de muchos tipos celulares, el IFN-γ aumenta la expresión de moléculas MHC clase II en células presentadoras de antígeno, como macrófagos y células dendríticas. Esto determina que presenten mejor el antígeno a células T_H. El IFN-γ también es un inductor potente de la activación de macrófagos y un promotor general de reacciones inflamatorias. La clonación de los genes que codifican los tres tipos de interferón, IFN-α, IFN-β e IFN-γ hizo posible que la industria de la biotecnología produjera grandes cantidades de todos estos interferones a costos que permiten su uso clínico práctico. Algunos usos clínicos de cada tipo de interferón son como sigue:

- El IFN-α se emplea casi siempre para el tratamiento de las hepatitis C y B. También se han encontrado diferentes aplicaciones en la terapéutica del cáncer. Un tipo de leucemia de células B que se conoce como leucemia de células vellosas (porque las células están recubiertas con proyecciones citoplásmicas finas, parecidas a pelos) responde bien al IFN-α. La leucemia mielógena crónica, una afección que se distingue por un incremento de las cifras de granulocitos, se inicia con una fase crónica de desarrollo lento que cambia a una fase acelerada y termina en una fase de blastos, que suele ser resistente al tratamiento. El IFN-α es una terapia eficaz para esta leucemia en la fase crónica (se han informado índices de respuesta del 70%) y algunos pacientes (hasta 20% en algunos estudios) experimentan una remisión completa. El sarcoma de Kaposi, el cáncer que se observa con mayor frecuencia en pacientes estadounidenses con SIDA, también responde al tratamiento con IFN-α y existen informes de una tendencia a una supervivencia más prolongada y menos infecciones oportunistas en personas tratadas con este agente. La mayoría de los efectos mencionados se obtuvo en estudios clínicos que usaron IFN-α solo, pero en determinadas aplicaciones como el tratamiento de la hepatitis C comúnmente se le usa con un antivírico como la ribavirina. El tiempo de depuración del IFN-α se alarga con el tratamiento con polietilenglicol (PEG), y esta forma, llamada interferón pegilado en la actualidad es de uso frecuente.
- El IFN-β surgió como el primer fármaco capaz de proporcionar una mejoría clínica en la esclerosis múltiple (EM). Los adultos jóvenes son el principal blanco de esta enfermedad neurológica autoinmunitaria, en la cual se observa desmielinización de los nervios del sistema nervioso central (SNC). Esto tiene como resultado una disfunción neurológica progresiva, que causa discapacidad en muchos casos grave. Este padecimiento suele caracterizarse por períodos de detención y remisión alternados con recaídas. El tratamiento con IFN-β proporciona períodos más prolongados de remisión y reduce la gravedad de las recaídas. Más aún, estudios de resonancia magnética del daño del SNC en pacientes tratados y sin tratamiento revelaron que el daño inducido por EM fue menor en un grupo de pacientes que recibieron IFN-β en comparación con quienes no lo recibieron.
- El IFN-γ se ha usado, con grados variables de éxito, para tratar una variedad de cánceres entre las que se incluyen linfoma no Hodgkin, linfoma cutáneo de células T, y mieloma múltiple. Una aplicación clínica más exitosa del IFN-γ es el tratamiento de la inmunodeficiencia hereditaria llamada enfermedad granulomatosa crónica (CGD; véase el cap. 20). La CGD representa un deterioro grave de la capacidad de las células fagocíticas de destruir microbios ingeridos, y pacientes con CGD son acosados por infecciones recurrentes por diversas bacterias (*Staphylococcus aureus, Klebsiella, Pseudomonas* y otras) y hongos como *Aspergillus* y *Candida*. Antes de la terapéutica con interferón se intentaron tratamientos estándares, como medidas preventivas de infecciones, administración agresiva de antibióticos y drenaje quirúrgico de abscesos. La base de la CGD es la incapacidad de generar oxidantes microbicidas (H_2O_2, superóxido y otros), y la administración de IFN-γ revierte en grado significativo este defecto. El

Durante ésta, las citocinas actúan como señales para el desarrollo que dirigen el compromiso de células progenitoras con linajes particulares y a través de ellos. Como se muestra en la figura 12-16, un progenitor mieloide en presencia de eritropoyetina procedería por una vía que conduce a la producción de eritrocitos; las concentraciones adecuadas de un grupo de citocinas que incluyen IL-3, GM-CSF, IL-1 e IL-6 provocan su ingreso a vías de diferenciación que llevan a la generación de monocitos, neutrófilos y otros leucocitos del grupo mieloide. A menudo, la participación de leucocitos en reacciones inmunitarias tiene como tratamiento de personas que sufren CGD con IFN-γ reduce mucho la incidencia de infecciones. Asimismo, las infecciones que se contraen son menos graves y disminuye el número promedio de días de hospitalización.

- Se ha demostrado también que el IFN-γ es eficaz en la terapéutica de la osteopetrosis (*no* osteoporosis), un trastorno congénito que pone en peligro la vida, caracterizado por un crecimiento óseo excesivo que produce ceguera y sordera. Otro problema que se presenta en esta enfermedad es que la formación de hueso reduce el espacio disponible para la médula ósea, y el descenso de la hematopoyesis tiene como resultado menos glóbulos rojos y anemia. La menor producción de glóbulos blancos incrementa la susceptibilidad a infecciones.

Es probable que se expanda el uso de interferones en la práctica clínica a medida que se sepa más sobre sus efectos en combinación con otros agentes terapéuticos. Aunque en común con otras citocinas los interferones son modificadores potentes de respuestas biológicas, por fortuna los efectos secundarios que acompañan su uso son mucho más leves. Los efectos secundarios característicos incluyen síntomas parecidos a influenza, como cefalea, fiebre, escalofrío y fatiga. Estos síntomas pueden tratarse en gran parte con acetaminofeno y disminuyen en intensidad durante la continuación del tratamiento. Aunque la toxicidad del interferón no suele ser grave, se han observado manifestaciones de importancia, como anemia y menores cifras de plaquetas y glóbulos blancos.

Terapéuticas basadas en citocinas utilizadas en clínica

Agente	Naturaleza del agente	Aplicación clínica
Enbrel	Región constante quimérica de receptor de TNF/IgG	Artritis reumatoide
Remicade o Humira	Anticuerpo monoclonal contra receptor de TNF-α	Artritis reumatoide Enfermedad de Crohn
Roferon	Interferón α-2a*	Hepatitis B Leucemia de células vellosas Sarcoma de Kaposi
Intron A	Interferón α-2b	Hepatitis C† Melanoma
Betaseron	Interferón β-1b	Esclerosis múltiple
Avonex	Interferón β-1a	Esclerosis múltiple
Actimmune	Interferón γ-1β	Enfermedad granulomatosa crónica (CGD) Osteopetrosis
Neupogen	G-CSF (citocina hematopoyética)	Disminución de infecciones en pacientes con cáncer tratados con quimioterapia, pacientes con SIDA
Leukine	GM-CSF (citocina hematopoyética)	Estimulación de la producción de células mieloides después del trasplante de médula ósea
Neumega o Neulasta	Interleucina 11 (IL-11), una citocina hematopoyética	Estimulación de la producción de plaquetas
Epogen	Eritropoyetina (citocina hematopoyética)	Estimulación de la producción de eritrocitos

*El interferón α-2a también está aprobado para uso veterinario contra la leucemia de los felinos.

†Normalmente se usa en combinación con un antivírico (ribavirina) en el tratamiento de la hepatitis C.

resultado su muerte y eliminación. Sin embargo, las inmunorreacciones adaptativa e innata generan citocinas que estimulan y apoyan la producción de leucocitos. En la figura 12-16 se muestran las etapas en las que varias citocinas intervienen en la hematopoyesis. Se han usado en aplicaciones clínicas las citocinas hematopoyéticas que estimulan la producción de neutrófilos (G-CSF), células mieloides (GM-CSF), plaquetas (IL-11) y eritrocitos (eritropoyetina), más a menudo como tratamiento de sostén en pacientes con inmunodeficiencia debida a un defecto genético o a quimioterapia por cáncer (véase el enfoque clínico).

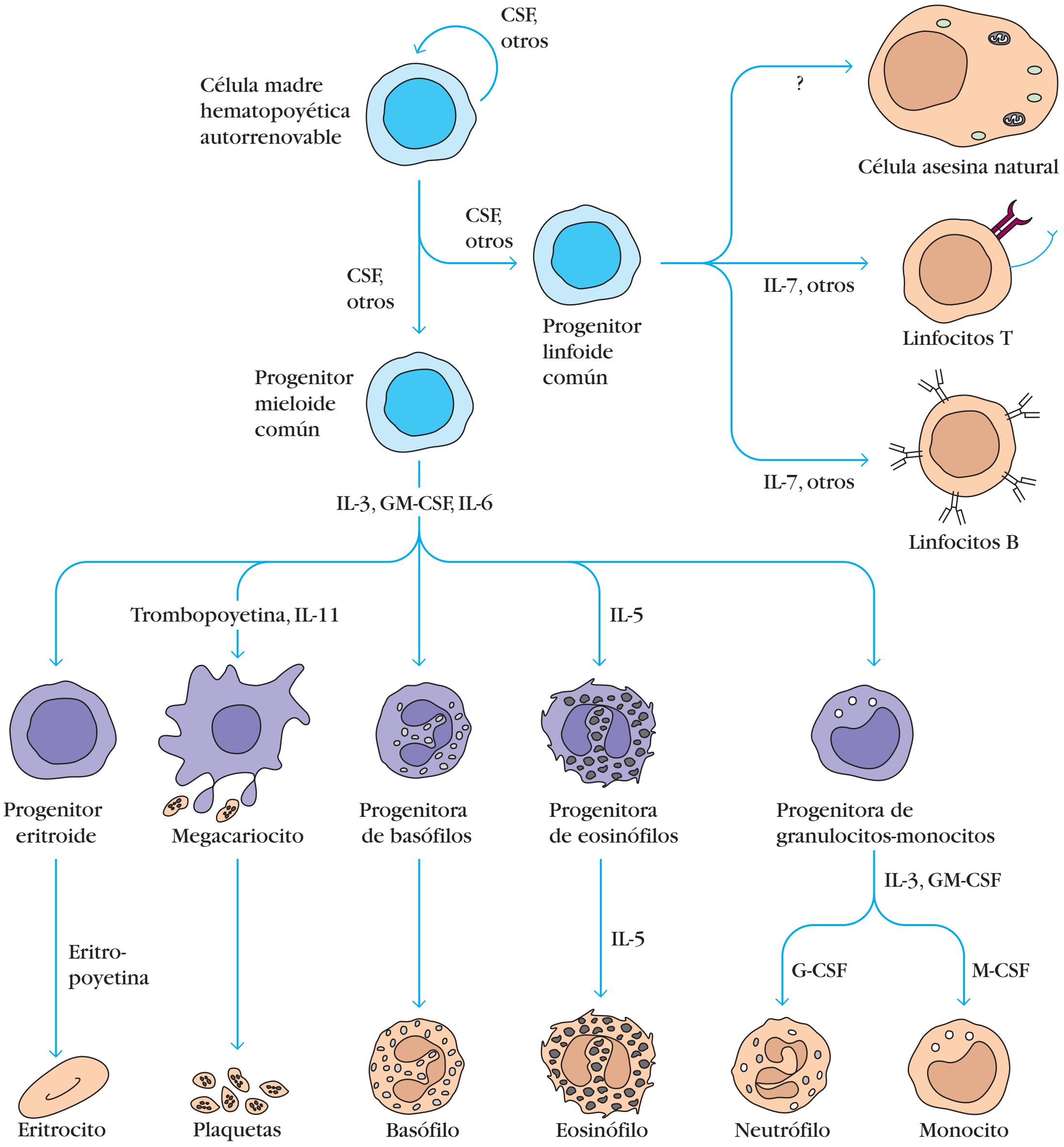

CSF, otros
Célula madre hematopoyética autorrenovable
CSF, otros
CSF, otros
Progenitor linfoide común
?
Célula asesina natural
IL-7, otros
Linfocitos T
IL-7, otros
Linfocitos B
Progenitor mieloide común
IL-3, GM-CSF, IL-6
Trombopoyetina, IL-11
IL-5
Progenitor eritroide
Megacariocito
Progenitora de basófilos
Progenitora de eosinófilos
Progenitora de granulocitos-monocitos
IL-3, GM-CSF
Eritro-poyetina
IL-5
G-CSF
M-CSF
Eritrocito
Plaquetas
Basófilo
Eosinófilo
Neutrófilo
Monocito

FIGURA 12-16 **Citocinas hematopoyéticas y hematopoyesis.** Una variedad de citocinas apoya el crecimiento y dirige la diferenciación de células hematopoyéticas. Obsérvese que quizá se requieran factores adicionales para algunas de las vías del desarrollo que se muestran en el diagrama.

RESUMEN

- Las citocinas son proteínas de bajo peso molecular que producen y secretan diversos tipos celulares. Tienen acciones importantes en la inducción y regulación de las interacciones en que intervienen células de los sistemas inmunitario, inflamatorio y hematopoyético.
- Las actividades biológicas de las citocinas poseen pleiotropía, redundancia, sinergia, antagonismo y en algunos casos inducción en cascada.
- Existen más de 200 citocinas diferentes, que en su mayor parte corresponden a una de las familias siguientes: eritropoyetinas, interferones, quimiocinas y factores de necrosis tumoral.
- Las citocinas actúan por unión a receptores de citocinas, la mayor parte de los cuales puede clasificarse como receptores de la superfamilia de las inmunoglobulinas, receptores de citocinas clases I y II, miembros de la familia de receptores de TNF y receptores de quimiocinas.
- Una citocina sólo puede actuar en una célula que expresa un receptor para ella. La actividad de citocinas particulares se dirige a células específicas mediante la regulación del perfil de receptores de citocina de la célula.
- La multimerización inducida por citocinas de receptores de citocina clases I y II activa una vía de transducción de señales JAK/STAT.
- La estimulación de células T_H con antígeno, en presencia de ciertas citocinas, puede conducir a la generación de subpo-

blaciones de células T colaboradoras que se conocen como T_H1 y T_H2. Cada subconjunto muestra perfiles característicos y diferentes de secreción de citocina.

- El perfil de citocinas de las células T_H1 apoya reacciones inmunitarias que implican la conducción de fagocitos, CTL y células NK para eliminar patógenos intracelulares. Las células T_H2 producen citocinas que apoyan la producción de isotipos particulares de inmunoglobulina y respuestas mediadas por inmunoglobulina E (IgE).
- Ya han ingresado a la práctica clínica tratamientos basados en citocinas y receptores de citocinas.

Bibliografía

Abbas, A., K. M. Murphy, and A. Sher. 1996. Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature* **383:**787.

Bach, E. A., M. Aguet, and R. D. Schreiber. 1998. The IFN-γ receptor: a paradigm for cytokine receptor signaling. *Annual Review of Immunology* **15:**563.

Darnell, J. E., Jr. 1997. STATs and gene regulation. *Science* **5332:** 1630-35.

Feldman, M., and L. Steinman. 2005. Design of effective immunotherapy for human autoimmunity. *Nature* **435:**612.

Fitzgerald, K. A., et al. 2001. *The Cytokine Facts Book*, 2nd ed. Academic Press, New York.

Flynn, J. L., and J. Chan. 2001. Immunology of tuberculosis. *Annual Review of Immunology* **19:**93-129.

Gadina, M., et al. 2001. Signaling by type I and II cytokine receptors: ten years after. *Current Opinion in Immunology* **3:**363-73.

Jaeckel, E., et al. 2001. Treatment of acute hepatitis C with interferon α-2b. *New England Journal of Medicine* **345:**1452-57.

Johnson, D. C., and G. McFadden. 2002. Viral immune evasion. In *Immunology of Infectious Diseases*. S. H. E. Kaufman, A. Sher, and R. Ahmed, eds. ASM Press, Washington, p. 357.

Kotenko, S. V., and J. A. Langer. 2004. Full house: 12 receptors for 27 cytokines. *International Immunopharmacology* **4:**593.

Kovanem, P. E., and W. J. Leonard. 2004. Cytokines and immunodeficiency diseases: critical roles of the γc-dependent cytokines interleukins 2, 4, 7, 9, 15, and 21, and their signaling pathways. *Immunological Reviews* **202:**67.

Mossman, T. R., et al. 1986. Two types of murine helper T cell clone. I. Definition according to profiles of lymphokine activities and secreted proteins. *Journal of Immunology* **136:**2348.

Pestka, S., C. D. Krause, and M. R. Walter. 2004. Interferons, interferon-like cytokines and their receptors. *Immunological Reviews* **202:**8-32.

Szabo, S. J., et al. 2000. A novel transcription factor, T-bet, directs T_H1 lineage commitment. *Cell* **100:**655-69.

Szabo, Susanne J., Brandon M. Sullivan, Stanford L. Peng, and Laurie H. Glimcher. 2003. Molecular mechanisms regulating T_H1 immune responses. *Annual Review of Immunology* **21:**713.

Ulloa, L. and K. J. Tracey. 2005. The "cytokine profile": a code for sepsis. *Trends in Molecular Medicine* **11:**56.

Vandenbroeck, K., et al. 2004. Inhibiting cytokines of the interleukin-12 family: recent advances and novel challenges. *Journal of Pharmacy and Pharmacology* **56:**145.

Walter, M. R., et al. 1995. Crystal structure of a complex between interferon-γ and its soluble high-affinity receptor. *Nature* **376:**230.

Wang, X., Rickert, M., and K. C. Garcia. 2005. Structure of the quaternary complex of interleukin-2 with its α, β, and γc receptors. *Science* **310:**1159.

Sitios útiles de la red

http://www.rndsystems.com/

Las sinopsis de citocinas que se encuentran en el sitio R&D Systems' Web proporcionan revisiones extensas, detalladas, con buenas referencias y, a menudo, muy bien ilustradas de muchas citocinas y sus receptores.

http://www.ncbi.nlm.nih.gov:80/LocusLink/index.html

Entrez Gene proporciona acceso a las secuencias e información descriptiva sobre loci genéticos de citocinas y otras proteínas. También suministra referencias y artículos que exponen la biología básica del gen (función y estructura) o la proteína de interés.

Preguntas de estudio

PREGUNTA DE ENFOQUE CLÍNICO Las citocinas están resultando ser fármacos potentes, pero su uso se acompaña de efectos secundarios que pueden ser perjudiciales para los pacientes. ¿Cuáles son algunos de los efectos secundarios que causan interferón γ-1b, interferón α-2a e interferón β?

1. Indique si cada una de las afirmaciones siguientes es verdadera o falsa. Si piensa que una afirmación es falsa, explique por qué.
   a. El receptor IL-2 de alta afinidad se integra con dos proteínas transmembranales.
   b. El anticuerpo monoclonal anti-TAC reconoce el receptor IL-1 en células T.
   c. Todos los receptores que unen citocinas contienen dos o tres subunidades.
   d. La expresión de la subunidad β del receptor IL-2 indica activación de células T.
   e. Algunos receptores de citocinas poseen dominios con actividad de tirosincinasa que funciona en la transducción de señales.
   f. Todos los miembros de cada subfamilia de los receptores de citocina (eritropoyetina) clase I comparten una subunidad de transducción de señales común.
2. Cuando una célula T secreta IL-2 en un órgano linfoide periférico, ¿proliferan todas las células T cercanas en respuesta a IL-2 o sólo algunas de ellas? Explique.
3. Describa de forma breve las similitudes y diferencias entre citocinas, factores de crecimiento y hormonas.
4. Indique qué subunidad(es) del receptor IL-2 expresa(n) los tipos de células siguientes:
   a. ________ Células T en reposo
   b. ________ Células T activadas
   c. ________ Células T activadas + ciclosporina A
   d. ________ Células T_C en reposo
   e. ________ CTL
   f. ________ Células NK

5. Los superantígenos se relacionan con varias enfermedades infecciosas y son útiles como instrumentos de investigación.

   a. ¿Qué propiedades de los superantígenos los diferencian de los antígenos ordinarios?
   b. ¿Cuáles son los mecanismos por los que se piensa que los superantígenos bacterianos causan síntomas relacionados con intoxicación alimentaria y síndrome de choque tóxico?
   c. ¿La actividad de los superantígenos muestra restricción en complejo mayor de histocompatibilidad (MCH)?

6. IL-3, IL-5 y GM-CSF poseen gran redundancia en sus efectos. ¿Qué característica estructural de los receptores de estas citocinas explicaría esta redundancia?

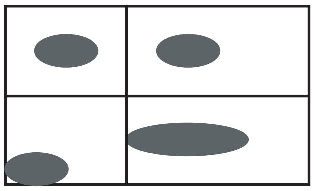
7. Múltiples pruebas indican la existencia de dos subconjuntos de células T$_H$ que difieren en el patrón de citocinas que secretan.

   a. ¿Qué tipo de reacción inmunitaria media el subconjunto T$_H$1? ¿Qué tipo de contacto antigénico es probable que induzca una respuesta mediada por T$_H$1?
   b. ¿Qué tipo de reacción inmunitaria media el subconjunto T$_H$2? ¿Qué tipo de contacto antigénico es probable que induzca una respuesta mediada por T$_H$2?

8. Indique si cada uno de los siguientes enunciados es cierto o falso. Si usted piensa que un enunciado es falso, explique por qué.

   a. La IL-6 estimula el hígado para producir proteínas de fase aguda que desactivan la inmunorreacción después de infecciones víricas.
   b. Las citocinas se expresan en concentraciones relativamente bajas y son muy potentes, pero sólo pueden actuar en células cercanas a aquella que las secreta.
   c. El que una célula reaccione o no a una citocina depende de cuáles subunidades del receptor se expresan y del nivel de expresión del receptor en la superficie celular.
   d. Las células T$_H$1 liberan citocinas que incrementan la producción de eosinófilos y células cebadas en la médula ósea.
   e. IL-4 inhibe la diferenciación de las células T0 en T$_H$1.
   f. La activación de células T da por resultado la secreción de IL-1 y su receptor en la superficie de la célula T.

9. La siguiente figura muestra el resultado de la citometría de flujo de células sanguíneas humanas. Las células fueron teñidas con subunidad α de receptor de IL-2 antihumano de conejo conjugada con FITC (eje *y*) y con subunidad γ de receptor de IL-2 antihumano de ratón conjugada con PE (eje *x*). ¿Cuál cuadrante muestra células que expresan el receptor con afinidad intermedia?



10. Para cada una de las siguientes citocinas, indique cuál de los efectos resultaría de la producción de la citocina.

Citocinas

   a. IL-1
   b. IL-4
   c. IL-7
   d. IL-5
   e. Eritropoyetina
   f. Interferón γ
   g. IL-25

Efectos

   1. Activación de macrófagos
   2. Aumento de la adhesividad de la vasculatura
   3. Promoción del desarrollo de T$_H$1
   4. Promoción del desarrollo de T$_H$2
   5. Producción de eosinófilos
   6. Producción de eritrocitos
   7. Inducción de proteínas de fase aguda
   8. Cambio de isotipo a IgE
   9. Desarrollo de linfocitos

11. Llene los espacios en cada enunciado.

   a. La citocina ____________ induce a las células B a experimentar el cambio de clase a IgE.
   b. Las ________________ son citocinas quimiotácticas.
   c. La cascada de transducción de señales iniciada por la unión de quimiocinas a sus receptores implica ___________.
   d. La _____________ es importante para el desarrollo de los linfocitos durante la hematopoyesis.
   e. Si una célula expresa las tres subunidades del receptor de IL-2 (IL-2R), reaccionará a concentraciones ___________ de GM-CSF.
   f. El ____________ es una citocina que se esperaría ver aumentada en una persona con una infección vírica (no necesariamente por un virus envuelto).

12. ¿Cuál o cuáles de los siguientes enunciados no son ciertos para las células T$_H$1?

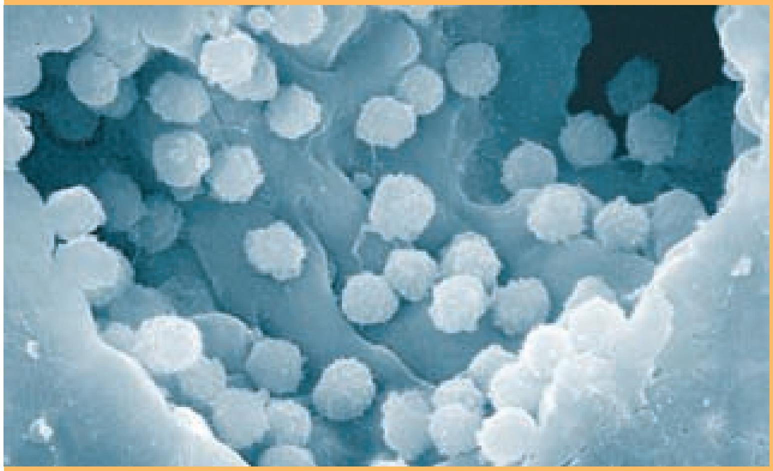
   a. Participan en la hipersensibilidad de tipo tardío.
   b. Activan células T$_C$.
   c. Promueven la inflamación.
   d. Promueven reacciones alérgicas promoviendo el cambio de clase a IgE.

13. ¿Cuál o cuáles de los siguientes enunciados son ciertos para el IFN-γ?

   a. Promueve la diferenciación de células T$_C$.
   b. Aumenta la actividad antimicrobiana de los macrófagos.
   c. Inhibe la diferenciación de T0 en T$_H$2.
   d. Ayuda a las células B a producir subtipos de IgG que son útiles en la opsonización.

capítulo 13

Activación y migración de leucocitos



Linfocitos unidos a la superficie de una vénula endotelial alta. [Tomada de S. D. Rosen y L. M. Stoolman, 1987, Vertebrate Lectins, *Van Nostrand Reinhold.]*

- Moléculas de adhesión celular
- Quimiocinas
- Extravasación de leucocitos: el paradigma de los pasos múltiples
- Recirculación de linfocitos
- Extravasación de linfocitos
- Otros mediadores de la inflamación
- Proceso inflamatorio
- Agentes antiinflamatorios

Cuando el organismo es infectado por invasores, las células del sistema inmunitario montan una defensa. Las células del sistema inmunitario innato son las primeras en llegar para organizarla, y la inmunorreacción adaptativa proporciona protección a más largo plazo. Los leucocitos vigilan continuamente el organismo recorriendo el aparato circulatorio. Cuando se detecta una infección, las células cruzan la barrera hemática y viajan al sitio de infección.

La inflamación es una respuesta compleja a lesión u otros traumatismos locales; se caracteriza por enrojecimiento, calor, tumefacción y dolor, como se describe en el capítulo 3. En ella participan diversas células del sistema inmunitario y numerosos mediadores. El ensamblaje y la regulación de las **reacciones inflamatorias** serían imposibles sin la migración controlada de diversas poblaciones de leucocitos. En los capítulos 10 y 11 se expuso el modo en que los linfocitos son activados en respuesta a los antígenos. En este capítulo se estudian las moléculas y los procesos que participan en la migración de los leucocitos, las diversas moléculas que median la inflamación, y los cambios fisiológicos característicos que acompañan a las reacciones inflamatorias.

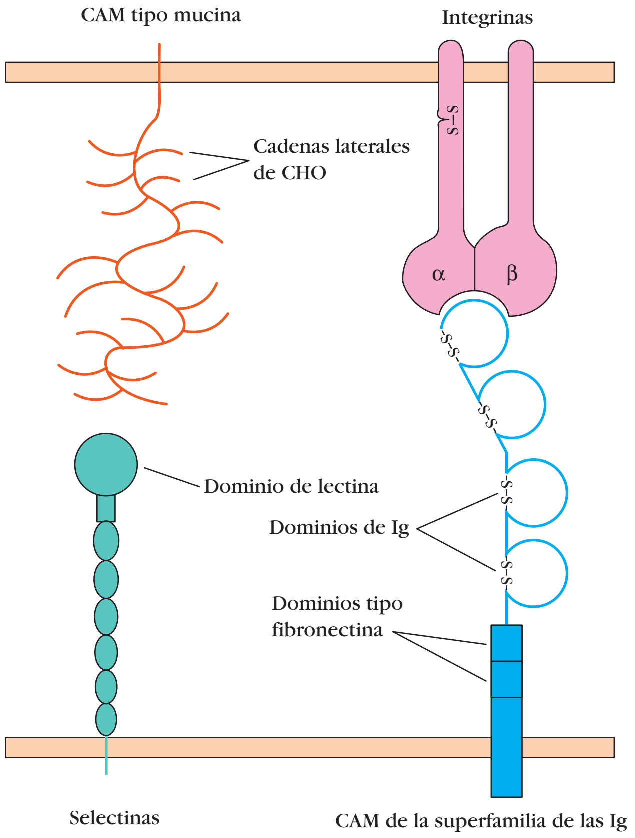
Moléculas de adhesión celular

Los tejidos del organismo son mantenidos juntos por interacciones moleculares entre las células. El sistema inmunitario es único en el sentido de que las células pueden recorrer el cuerpo de un lado a otro. Las mismas moléculas que mantienen juntos los tejidos, llamadas **moléculas de adhesión celular** (**CAM**, del inglés *cell adhesion molecules*), pueden ser usadas por los leucocitos para interactuar con las células de los tejidos.

El endotelio vascular sirve como un “portero” de gran importancia que regula el paso de moléculas y leucocitos transportados por la sangre a los tejidos. A fin de que los leucocitos circulantes ingresen en el tejido inflamado o en los órganos linfoides periféricos, estas células deben adherirse a las células endoteliales que revisten las paredes de los vasos sanguíneos y pasar entre ellas, un proceso que se denomina **extravasación**. Las células endoteliales pueden expresar CAM específicas de leucocitos. Algunas de estas proteínas de membrana se expresan de manera constitutiva; otras sólo lo hacen en respuesta a las concentraciones locales de citocinas producidas durante una reacción inflamatoria. Linfocitos, monocitos y granulocitos recirculantes poseen receptores que se fijan a las CAM sobre el endotelio vascular, y que les permiten extravasarse hacia los tejidos.

Además de su función en la adhesión de los leucocitos a las células endoteliales vasculares, las CAM de los leucocitos sirven también para incrementar la potencia de las interacciones funcionales entre las células del sistema inmunitario. Está demostrado que diversas moléculas de adhesión contribuyen a las interacciones entre las células T_H y las APC, las células T_H y las células B, y los CTL y las células blanco. Se han clonado y caracterizado diversas CAM endoteliales y leucocíticas que ofrecen nuevos detalles del proceso de extravasación. La mayor parte de estas CAM pertenece a cuatro familias de proteínas: familia de la selectina, familia tipo mucina, familia de la integrina y superfamilia de las inmunoglobulinas (Ig) (fig. 13-1).

a) Estructura general de las familias de CAM



b) CAM seleccionadas pertenecientes a cada familia

CAM tipo mucina:
- GlyCAM-1
- CD34
- PSGL-1
- MAdCAM-1

CAM de la superfamilia de las Ig:
- ICAM-1, -2, -3
- VCAM-1
- LFA-2 (CD2)
- LFA-3 (CD58)
- MAdCAM-1

Selectinas:
- Selectina L
- Selectina P
- Selectina E

Integrinas:
- α4β1 (VLA-4, LPAM-2)
- α4β7 (LPAM-1)
- α6β1 (VLA-6)
- αLβ2 (LFA-1)
- αMβ2 (Mac-1)
- αXβ2 (CR4, p150/95)

FIGURA 13-1 Esquemas que delinean las estructuras generales de las cuatro familias de moléculas de adhesión celular (a) y lista de moléculas representativas de cada familia (b). El dominio de lectina en las selectinas interactúa sobre todo con mitades carbohidrato (CHO) de las moléculas del tipo de la mucina. Ambas cadenas componentes de las moléculas de integrina contribuyen al sitio de fijación, que interactúa con un dominio Ig de las CAM que pertenecen a la superfamilia de las Ig. La MAdCAM-1 contiene tanto dominios tipo mucina como tipo Ig, y puede fijarse tanto a selectinas como a integrinas.

SELECTINAS La familia de glucoproteínas de membrana denominadas en conjunto **selectina** tiene un dominio distal del tipo de la lectina que permite a estas moléculas fijarse a grupos carbohidrato específicos. Las selectinas interactúan sobre todo con una mitad carbohidrato sialilada que recibe el nombre de sialilo de Lewis^x, la cual a menudo se encuentra enlazada con moléculas similares a la mucina. La familia de la selectina está constituida por tres moléculas que se designan con las letras L, E y P, también llamadas CD62L, CD62E y CD62P. La mayor parte de los leucocitos circulantes expresa selectina L, en tanto que las selectinas E y P se expresan en células endoteliales vasculares durante una reacción inflamatoria. La selectina P se almacena dentro de cuerpos de Weibel-Palade, un tipo de gránulo contenido dentro de la célula endotelial. Al activarse ésta, el gránulo se fusiona con la membrana plasmática, de lo que resulta la expresión de selectina P en la superficie celular. Para la expresión de la selectina E se requiere la síntesis de nuevas proteínas; ocurre después de que el endotelio ha sido estimulado con citocinas proinflamatorias. Las moléculas de selectina se encargan de la adhesión inicial de los leucocitos al endotelio vascular.

MUCINAS Las **mucinas** constituyen un grupo de proteínas ricas en serina y treonina densamente glucosiladas. Su estructura extendida les permite presentar sialilo de Lewis^x y otros fragmentos de carbohidrato sulfatado como sitios de unión para las selectinas. Por ejemplo, la selectina L (CD26L) situada sobre los leucocitos se une a CD34 y GlyCAM-1 en las células endoteliales. Otra molécula tipo mucina (PSGL-1) que se halla en los neutrófilos interactúa con las selectinas E y P que se expresan en el endotelio inflamado.

INTEGRINAS Las **integrinas** son proteínas heterodiméricas constituidas por una cadena α y una β que se unen de manera no covalente en la superficie celular. La mayoría de las integrinas se une a moléculas de la matriz extracelular y hace posible la interacción de ésta en todo el cuerpo. Algunas subfamilias (según el uso común de subunidades) se unen a moléculas de adhesión en la superficie celular y participan en interacciones célula-célula. Los leucocitos expresan una subfamilia específica de integrinas conocidas como integrinas β2 (o integrinas CD18), así como varias otras que también se expresan en otros tipos celulares. Las integrinas que contienen la subunidad β2 (CD18) se unen a miembros de la familia de las Ig así como a proteínas relacionadas con la reacción inflamatoria (cuadro 13-1). La combinación de integrinas expresadas en un tipo celular dado permite a estas células unirse a diferentes CAM expresadas en la superficie del endotelio vascular. Como se describe más adelante, algunas integrinas deben ser activadas antes de que puedan fijarse con alta afinidad a sus ligandos. La acumulación de integrinas en la superficie celular también incrementa la probabilidad de unión eficaz e interviene en la migración leucocítica. La importancia de las moléculas de integrina en la extravasación de los leucocitos se demuestra en la **deficiencia de adhesión leucocítica** (**LAD**, del inglés *leukocyte adhesion deficiency*) tipo 1, una enfermedad autosómica recesiva descrita más adelante en este capítulo (véase el enfoque clínico). Se caracteriza por infecciones bacterianas recurrentes y cicatrización deficiente de las heridas. Se observa una deficiencia similar en personas con expresión anormal de selectinas, a la que se denomina LAD tipo 2.

CUADRO 13-1 Algunas interacciones entre las moléculas de adhesión celular que participan en la extravasación de leucocitos*

Receptor en las células	Expresión	Ligandos	Paso de extravasación†
PSGL-1	Neutrófilos	Selectina P (CD62P), sialilo de Lewis^x	Rodamiento/fijación
Selectina L (CD62L)	Leucocitos	GlyCAM-1, CD34, MadCAM-1	Rodamiento/fijación
CD11a/CD18 (αLβ2, LFA-1)	Leucocitos	ICAM-1, 2	Adhesión firme
CD11b/CD18 (Mac-1)	Monocitos, neutrófilos, macrófagos	ICAM-1, iC3b, fibrinógeno	Adhesión firme
CD49d/CD29 (α4β1, VLA-4)	Linfocitos, monocitos	VCAM-1, fibronectina	Adhesión firme
α4β7	Linfocitos	VCAM-1, MAdCAM-1, fibronectina	Adhesión

*La mayor parte de las CAM endoteliales y leucocíticas pertenecen a cuatro grupos de proteínas, como se ilustra en la figura 13-1. En general, las moléculas de la familia de las integrinas se fijan a CAM de la superfamilia de las Ig, y las moléculas de la familia de las selectinas lo hacen a CAM tipo mucina.

†En las figuras 13-3a y 13-8 se ilustran las etapas del proceso de extravasación.

CAM DE LA SUPERFAMILIA DE LAS IG (ICAM) Varias moléculas de adhesión contienen un número variable de dominios similares a los de la inmunoglobulina y por ello se clasifican como miembros de la superfamilia de las inmunoglobulinas. En este grupo se incluyen ICAM-1 (CD54), ICAM-2 (CD102), ICAM-3 (CD50) y VCAM (CD106), que se expresan sobre las células del endotelio vascular y se fijan a diversas moléculas de integrina. Una molécula de adhesión celular interesante, que se denomina MAdCAM-1, tiene tanto dominios tipo Ig como dominios tipo mucina. Esta molécula se expresa en el endotelio de las mucosas y dirige la entrada de los linfocitos en éstas. Se fija a la integrina α4β7 (LPAM) mediante su dominio tipo inmunoglobulina y a la selectina L (CD62L) por medio de su dominio tipo mucina. La molécula 1 de adhesión a plaquetas y células endoteliales (PECAM-1, CD31) se encuentra en la superficie de algunos leucocitos (neutrófilos, monocitos y un subconjunto de linfocitos T) y dentro de un complejo de unión de células endoteliales. Exhibe *unión homotípica* —la fijación de una molécula de PECAM-1 de una célula a una molécula de PECAM-1 de otra célula—. La molécula 1 de adhesión a células de unión (JAM-1, CD321) también se localiza dentro del complejo de unión endotelial. Puede interactuar consigo mismo y con CD11a/CD18 para participar en la migración transendotelial. La adhesión homotípica de miembros de la superfamilia de las Ig también se observa entre otros tipos celulares, como L1 y NCAM en células neurales.

Quimiocinas

Las quimiocinas son una superfamilia de polipéptidos pequeños, que en su mayor parte contiene 90 a 130 aminoácidos. Controlan en forma selectiva fenómenos como la adhesión, la quimiotaxis y la activación de muchos tipos de poblaciones y subpoblaciones de leucocitos. Por tanto son reguladores de primera importancia del tránsito de los leucocitos. Algunas quimiocinas participan sobre todo en los procesos inflamatorios, otras se expresan de manera constitutiva y desempeñan importantes funciones homeostásicas o del desarrollo. Las quimiocinas "de mantenimiento" se producen en los órganos y los tejidos linfoides o en sitios no linfoides como la piel, en los que dirigen el tránsito normal de linfocitos, como determinar la colocación correcta de los leucocitos recién generados por la hematopoyesis y su llegada desde la médula ósea. El timo expresa quimiocinas de modo constitutivo, y la linfopoyesis normal de las células B también depende de la expresión apropiada de estos factores.

Los efectos mediados por las quimiocinas no se limitan al sistema inmunitario. Los ratones que carecen de la quimiocina CXCL12 (llamada también SDF-1) o de su receptor (cuadro 13-2) muestran defectos mayores en el desarrollo del encéfalo y el corazón. Asimismo está demostrado que los miembros de la familia de las quimiocinas tienen funciones reguladoras en el desarrollo de los vasos sanguíneos (angiogénesis) y la cicatrización de las heridas.

Las quimiocinas inflamatorias suelen inducirse en respuesta a las infecciones. El contacto con los microorganismos patógenos o la acción de las citocinas proinflamatorias, como TNF-α, estimulan la expresión de las citocinas inflamatorias en los sitios en que se desarrolla la inflamación. Las quimiocinas ocasionan que los leucocitos se desplacen hacia diversos sitios tisulares al inducir su adhesión al endotelio vascular. Después de migrar a los tejidos, los leucocitos son atraídos hacia las grandes concentraciones localizadas de quimiocinas, lo que da por resultado reclutamiento dirigido de poblaciones de fagocitos y linfocitos efectores en los sitios inflamados. El ensamblaje de los leucocitos en los sitios infectados, orquestado por las quimiocinas, es parte esencial del montaje de una reacción guiada apropiadamente a un proceso infeccioso.

La familia de las quimiocinas tiene cuando menos 43 miembros; aportan variación adicional vías alternas de empalme de RNA durante la transcripción, procesamiento postraduccional e isoformas (cuadro 13-2). Las quimiocinas poseen cuatro residuos de cisteína conservados y, con base en la posición de dos de los cuatro residuos de cisteína invariables, casi todas caen en uno u otro de dos subconjuntos distintivos:

- Quimiocinas del **subconjunto CC**, en que las cisteínas conservadas son contiguas.
- Quimiocinas del **subconjunto CXC**, en que las cisteínas conservadas están separadas por algún otro aminoácido (X).

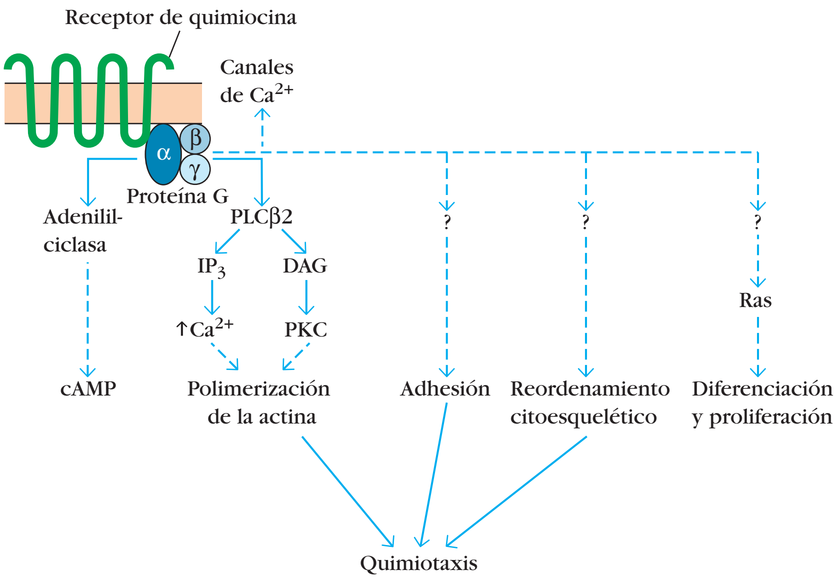
CUADRO 13-2 Quimiocinas humanas y sus receptores*

Receptores de quimiocinas	Quimiocinas unidas por receptor
	SUBCONJUNTO CXC
CXCR1	IL-8 (CXCL8), GCP-2(CXCL6)
CXCR2	IL-8 (CXCL8), Gro-α (CXCL1), Gro-β (CXCL2), Gro-γ (CXCL3), NAP-2 (CXCL7), ENA-78 (CXCL5)
CXCR3	IP-10 (CXCL10), Mig (CXCL9), I-TAC (CXCL11)
CXCR3b	PF4 (CXCL4), IP-10 (CXCL9), Mig (CXCL9), I-TAC
CXCR4 (CXCL11)	SDF-1 (CXCL12)
CXCR5	BCA-1 (CXCL13)
CXCR6	CXCL16, citocina transmembranal
	SUBCONJUNTO CC
CCR1	MIP-1α (CCL3), RANTES (CCL5), MCP-2 (CCL8), MCP3(CCL7), MRP2 (mCCL9), MCP4 (hCCL13), HCCL1 (CCL14), HCC2 (hCCL15), HCC4 (CCL16), MPIF1 (hCCL23)
CCR2	MCP-1 (CCL2), MCP-2 (CCL8), MCP-3 (CCL7), MCP4 (hCCL13), MCP5 (mCCL12), HCC4 (CC16)
CCR3	Eotaxina (CCL11), RANTES (CCL5), MCP-2 (CCL8), MCP-3 (CCL7), MCP-4 (hCCL13), Eotaxina-2 (hCCL24), HCC2 (hCCL15), Eotaxina-3 (hCCL26), MEC (CCL28)
CCR4	TARC (CCL17), MDC (CCL22)
CCR5	MIP-1α (CCL3), RANTES (CCL5), MIP-1β (CCL4), MCP2 (CCL8), Eotaxina (CCL11), HCCI (CCL14), HCC4 (CCL16)
CCR6	MIP3α (LARC, CCL20)
CCR7	ELC (MIP3β, CCL19), SLC (CCL21)
CCR8	1-309 (CCL1)
CCR9	TECK (CCL25)
CCR10	CTAK (CCL27), MEC (CCL28)
	SUBCONJUNTOS CC Y CXC
DARC (antígeno Duffy de los eritrocitos)	Se une a varias quimiocinas CC y CXC
	SUBCONJUNTO C
XCR1	Linfotactina (XCL1), SCM1b (hXCL2)
	SUBCONJUNTO CX3C
CX3CR1	Fractalcina, quimiocina transmembranal (CX3CL1)

*En este cuadro se enumeran los receptores de quimiocinas más conocidos, pero no todas las quimiocinas. Los nombres completos de varias de las quimiocinas que se abrevian en el cuadro son los siguientes: ELC (quimiocina ligando de Ebl1), ENA-78 (proteína activadora de neutrófilos derivada de células epiteliales), GCP-2 (proteína 2 quimiotáctica de granulocitos), Gro-α, β, γ (oncogén α, β, γ relacionado con el crecimiento), MCP-1, 2, 3 o 4 (proteína 1, 2, 3 o 4 quimioatrayente de monocitos), Mig (monocina inducida por interferón γ), MIP-1α, 1β o 5 (proteína 1α, 1β o 5 inflamatoria de macrófagos), NAP-2 (proteína 2 activadora de neutrófilos), RANTES (expresada y secretada por células T normales y regulada con la activación), TARC (quimiocina regulada por el timo y la activación).

FUENTE: Adaptado de Nelson y Krensky, 1998, *Current Opinion Immunology* **10:**265; Baggiolini, 1998, *Nature* **392:**565, y Cyster, 2005, *Annual Review of Immunology* **23:**127.

FIGURA 13-2 Las quimiocinas envían señales a través de receptores acoplados con grandes proteínas G heterotriméricas. La fijación de una quimiocina a su receptor activa muchas vías de transducción de señales, lo que da por resultado diversas modificaciones de la fisiología de la célula blanco. En esta figura, si la vía de transducción de señales se desconoce o se conoce de manera incompleta, se utilizan líneas de guiones y signos de interrogación para representar las probables opciones. *[Adaptada de Premack et al., 1996,* Nature Medicine ***2****:1174, y Rot and von Adrian, 2004,* Annual Review of Immunology ***22****:891.]*


Receptor de quimiocina
Canales de Ca^{2+}
α
β
γ
Proteína G
Adenilil-ciclasa
PLCβ2
IP_3
DAG
$\uparrow Ca^{2+}$
PKC
?
?
?
Ras
cAMP
Polimerización de la actina
Adhesión
Reordenamiento citoesquelético
Diferenciación y proliferación
Quimiotaxis

Las excepciones son CX3CL1, con tres aminoácidos entre las cisteínas conservadas, y XCL1 y 2, que carecen de dos de las cuatro cisteínas conservadas.

La acción de las quimiocinas es mediada por receptores cuyas cadenas polipeptídicas atraviesan la membrana siete veces. Estos receptores son miembros de la familia de receptores unidos a proteína G y se agrupan conforme al tipo de quimiocina(s) que unen. Los receptores de CC (CCR) reconocen las quimiocinas CC, y los de CXC (CXCR) reconocen las quimiocinas CXC. Como en el caso de las citocinas, la interacción entre las quimiocinas y sus receptores es fuerte ($K_d > 10^{-9}$) y altamente específica. Sin embargo, como se indica en el cuadro 13-2, la mayor parte de los receptores fija más de una quimiocina. Por ejemplo, el receptor de CXCR2 reconoce por lo menos seis quimiocinas distintas, y muchas quimiocinas pueden fijarse a más de un receptor.

Cuando un receptor se fija a una quimiocina apropiada, activa grandes proteínas G heterotriméricas e inicia un proceso de transducción de señales que genera segundos mensajeros potentes como AMP cíclico (cAMP), IP_3, Ca^{2+} y proteínas G pequeñas activadas (fig. 13-2). Ocurren cambios impresionantes a causa de la activación iniciada por las quimiocinas de estas vías de transducción de señales. La adición de una quimiocina apropiada a los leucocitos causa en segundos cambios repentinos y extensos de su forma, promueve mayor adhesividad a las paredes endoteliales por activación de las integrinas leucocíticas y genera radicales de oxígeno microbicidas en los fagocitos, además de causar la liberación del contenido de gránulos, por ejemplo proteasas de neutrófilos y macrófagos, histamina de basófilos y proteínas citotóxicas de eosinófilos.

Los perfiles de receptores de quimiocina median la actividad de los leucocitos

Entre las poblaciones mayores de leucocitos humanos, los neutrófilos expresan CXCR1, 2 y 4, y los eosinófilos tienen CCR1 y CCR3 (fig. 13-3). Aunque las células T vírgenes en reposo

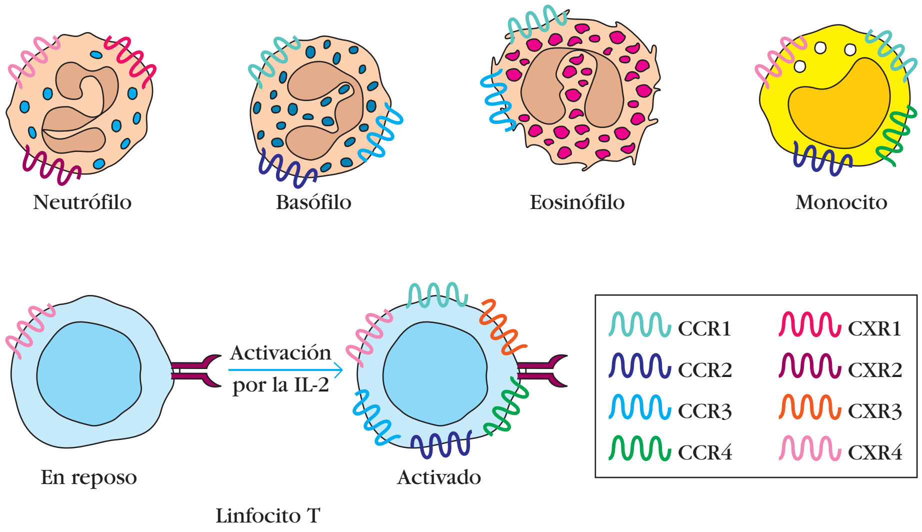

Neutrófilo
Basófilo
Eosinófilo
Monocito
Activación por la IL-2
En reposo
Activado
Linfocito T
CCR1
CCR2
CCR3
CCR4
CXR1
CXR2
CXR3
CXR4

FIGURA 13-3 Patrones de expresión de algunos receptores principales de quimiocinas sobre diferentes clases de leucocitos humanos. Hasta ahora la variedad más grande de receptores de quimiocinas se observa en los linfocitos T activados. *[Adaptada de M. Baggiolini, 1998,* Nature ***392****:565.]*

exhiben CCR7, éste no se encuentra en células T activadas, las cuales suelen poseer CCR1, 4, 5 y 8, CXCR3 y tal vez otros. Es claro que una célula sólo puede reaccionar a una quimiocina si cuenta con un receptor que la reconozca. En consecuencia, las diferencias en la expresión de los receptores de quimiocinas por los leucocitos en conjunto con la producción de perfiles distintivos de quimiocinas por tejidos y sitios destinatarios ofrecen estupendas oportunidades para la regulación diferencial de las actividades de las distintas poblaciones de leucocitos. De hecho, se observan diferencias en los patrones de expresión de receptores de quimiocina dentro de las poblaciones de leucocitos. Recuérdese que los subconjuntos T_H1 y T_H2 de células T_H pueden distinguirse por sus diferentes patrones de producción de citocinas. Asimismo estos subconjuntos muestran perfiles distintos de receptores de quimiocinas. Las células T_H2 expresan CCR4 y 8, y otros diversos receptores no expresados por las células T_H1. Por otra parte, las células T_H1 expresan CCR1 y 5, en tanto que la mayor parte de las células T_H2 no lo hace.

Extravasación de leucocitos: el paradigma de los pasos múltiples

A medida que se desarrolla una reacción inflamatoria, diversas citocinas y otros mediadores inflamatorios actúan en los vasos sanguíneos locales, induciendo una mayor expresión de CAM endoteliales. Se dice entonces que el endotelio vascular está activado, o **inflamado**. Después se extravasan leucocitos al tejido y migran al sitio de infección. Para lograrlo, estos leucocitos deben reconocer el endotelio inflamado y adherirse a él con la firmeza suficiente para evitar que la corriente sanguínea los arrastre. A continuación los leucocitos fijados deben penetrar por la capa endotelial y migrar hacia el tejido subyacente.

El proceso de extravasación de los leucocitos puede dividirse en cuatro etapas: 1) rodamiento, mediado por selectinas; 2) activación por el estímulo quimioatrayente; 3) paro y adhesión, y 4) migración transendotelial (fig. 13-4). En la primera etapa los leucocitos se adhieren en forma laxa al endotelio por una interacción de baja afinidad entre selectina y carbohidrato. Durante la reacción inflamatoria las citocinas y otros mediadores actúan sobre el endotelio local e inducen la expresión de moléculas de adhesión de la familia de las selectinas. Estas moléculas de selectinas E y P se fijan a moléculas de adhesión celular similares a la mucina sobre la membrana del leucocito o al lactosaminoglucano sialilado conocido como sialilo de Lewis^x. Esta interacción une el leucocito por poco tiempo a la célula endotelial, pero la fuerza cortante de la sangre circulante acaba por desprender la célula. Las moléculas de selectina situadas sobre otra célula endotelial vuelven a fijar el leucocito; este proceso se repite de modo que el leucocito da tumbos a lo largo del endotelio, en un tipo de fijación que se conoce como *rodamiento.*

El proceso de rodamiento frena la célula el tiempo suficiente para permitir que ocurran interacciones entre quimiocinas (cuadro 13-2) presentes en la superficie del endotelio y receptores en el leucocito. Las diversas quimiocinas expresadas en el endotelio y el repertorio de receptores de quimiocina en el leucocito proporcionan un grado de especificidad al reclutamiento de glóbulos blancos en el sitio de infección. Los procesos de transducción de señales inducidos por la unión de una quimiocina a su receptor en la superficie del leucocito da por resultado un cambio de conformación y el agrupamiento de las integrinas sobre el leucocito. Esto permite que la célula se una con más firmeza al endotelio, reduciendo la probabilidad de que sea arrastrado por la corriente sanguínea. Entonces los leucocitos se comprimen y retuercen para pasar entre dos células del endotelio vecinas sin alterar la integridad de la barrera endotelial. Lo realiza por unión homotípica de molécula 1 de adhesión a plaquetas y células endoteliales (PECAM-1; CD31) presente en el leucocito con PECAM-1 presente en el endotelio. La PECAM-1 se encuentra normalmente dentro de la unión endotelial en una interacción homotípica. Así, cuando la PECAM-1 leucocítica se une a la PECAM-1 endotelial, se mantiene la integridad de unión. El CD11a/CD18 leucocítico también se une a JAM-1, otra molécula de adhesión localizada dentro de la unión estrecha endotelial, para mediar la salida desde el torrente sanguíneo. Otras integrinas que se unen a proteínas de matriz dentro de la membrana basal y la matriz extracelular permiten a los leucocitos seguir un gradiente de quimioatrayentes hasta el sitio de infección.

EXTRAVASACIÓN DE NEUTRÓFILOS Los neutrófilos suelen ser el primer tipo celular en unirse al endotelio inflamado y extravasarse a los tejidos. No se fijan al endotelio en reposo no inflamado, ni salen del torrente sanguíneo en ausencia de infección, debido a la falta de selectinas E y P expresadas en la superficie del endotelio en reposo (fig. 13-5a). Cuando las células

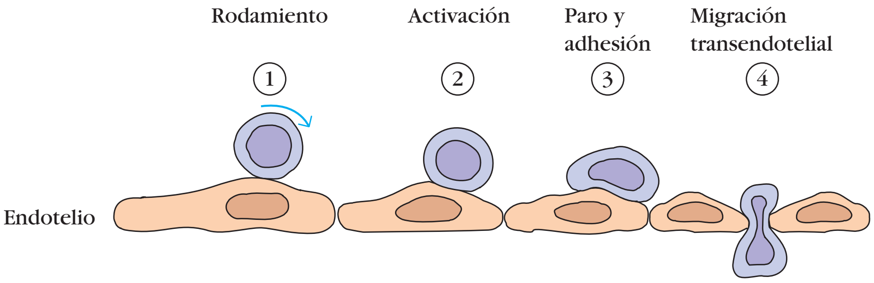


FIGURA 13-4 Las cuatro etapas secuenciales pero superpuestas de la extravasación de los leucocitos. 1) El rodamiento inicial es mediado por la fijación de moléculas de selectina a mitades carbohidrato sialiladas que se encuentran sobre CAM tipo mucina. 2) Las quimiocinas se fijan a receptores unidos a proteína G sobre el leucocito, lo que desencadena una señal activadora. Esta señal induce un cambio de configuración en las moléculas de integrina (3), que les permite adherirse con firmeza a moléculas de la superfamilia de las Ig sobre el endotelio. 4) Los leucocitos atraviesan la unión endotelial estrecha y luego migran hacia el tejido subyacente.

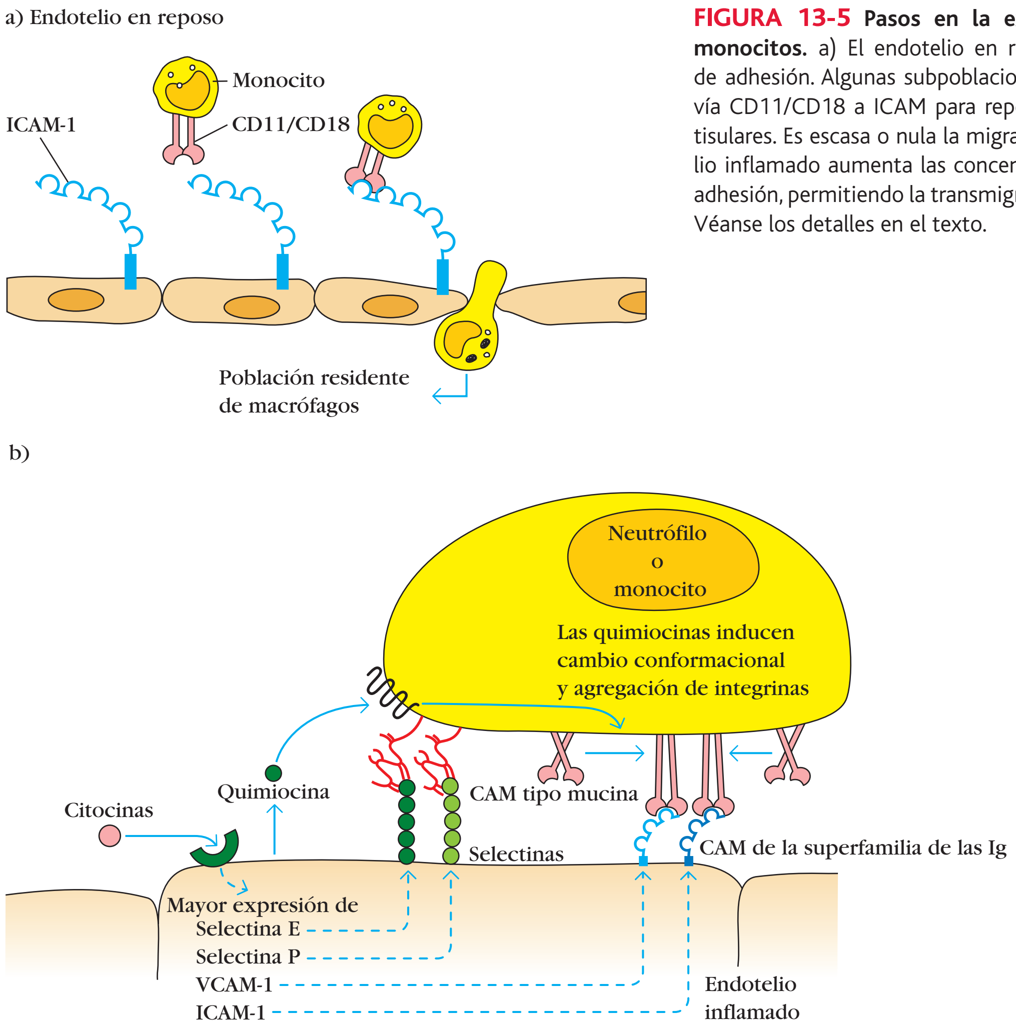


FIGURA 13-5 Pasos en la extravasación de neutrófilos y monocitos. a) El endotelio en reposo presenta pocas moléculas de adhesión. Algunas subpoblaciones de monocitos pueden unirse vía CD11/CD18 a ICAM para reponer la población de macrófagos tisulares. Es escasa o nula la migración de neutrófilos. b) El endotelio inflamado aumenta las concentraciones de varias moléculas de adhesión, permitiendo la transmigración de neutrófilos y monocitos. Véanse los detalles en el texto.

endoteliales se inflaman, se libera selectina P de los cuerpos de Weibel-Palade y queda disponible en la superficie celular para la unión a neutrófilos. Éstos expresan selectina L y PSGL-1 tipo mucina para mediar el rodamiento sobre endotelio inflamado. Conforme el neutrófilo rueda, es activado por diversos quimioatrayentes; éstos son partes permanentes de la superficie de la célula endotelial o bien son secretados a nivel local por células que participan en la reacción inflamatoria. Dos quimiocinas implicadas en el proceso de activación son la interleucina 8 (IL-8) y la proteína inflamatoria de macrófagos (MIP-1β). La fijación de estos quimioatrayentes a los receptores situados sobre la membrana del neutrófilo desencadena una señal activadora mediada por proteínas G relacionadas con el receptor. Esta señal induce un cambio de configuración en las moléculas de integrina de la membrana del neutrófilo, lo cual aumenta su afinidad por las moléculas de adhesión de la superfamilia de las Ig (ICAM) en el endotelio. Los neutrófilos expresan CD11a/CD18 y CD11b/CD18 (LFA-1 y MAC-1), que adquieren su conformación activa, más adhesiva, cuando el neutrófilo es estimulado por quimiocinas. El endotelio en reposo expresa bajas concentraciones de ICAM-1 (CD54), lo cual sostiene la adhesión con CD11a/CD18 y CD11b/CD18 activados sin necesidad de la lenta síntesis de nuevos miembros de la familia de las Ig.

Luego, el neutrófilo migra a través de la pared vascular hacia los tejidos, y es guiado hasta el sitio de infección por gradientes de otros quimioatrayentes. El producto de escisión del complemento C5a, péptidos bacterianos que contienen péptidos *N*-formilados, y leucotrienos se unen a receptores específicos en el neutrófilo, lo que contribuye a la migración y la activación dirigidas de estas células.

EXTRAVASACIÓN DE MONOCITOS Los monocitos de la sangre periférica llegan a un sitio de infección mucho más tarde que los neutrófilos. Esto se debe al tiempo que tarda el endotelio inflamado en aumentar la expresión de VCAM-1 (CD106) e ICAM-1 (CD54) (fig. 13-5b). En el ser humano, el endotelio en reposo expresa poco o nada de VCAM-1, el ligando para la integrina α4β1 (CD49d/CD29, VLA-4). Una subpoblación de monocitos migra en bajas concentraciones al tejido no inflamado para reponer la población de macrófagos y células dendríticas residentes por medio de una interacción dependiente de CD11/CD18-ICAM. Se piensa que la quimiocina CXCL14 facilita esta migración constitutiva. Una vez que la expresión de ICAM-1 y VCAM-1 se eleva en la superficie celular, los monocitos de sangre periférica se adhieren de manera más eficaz y migran al interior de los tejidos inflamados. El rodamiento es mediado por selectina L (CD62L), y las integrinas son activadas por quimioatrayentes específicos de monocitos, en especial proteína 1 quimioatrayente de monocitos (MCP-1, CCL2). Como en el caso de los neutrófilos, la migración transendotelial es mediada por interacciones entre PECAM-1 y PECAM-1 y posiblemente por interacciones adicionales en las que intervienen JAM.

Los monocitos son atraídos a la zona de infección por quimioatrayentes tales como fragmentos peptídicos bacterianos y fragmentos del complemento. Entre los receptores expresados por monocitos para fragmentos del complemento se incluyen CR3, consistente en las integrinas CD11b/CD18 (αMβ2, MAC-1), y CR4 (CD11c/CD18; αXβ2, p150.95). De este modo, los componentes del complemento contribuyen a dirigir los monocitos al sitio de la infección. Dentro del tejido blanco, los monocitos pueden diferenciarse en macrófagos, que se activan dentro del tejido como se describe en el capítulo 3.

Recirculación de linfocitos

A diferencia de otros leucocitos, los linfocitos recirculan continuamente por la sangre y la linfa hacia los diversos órganos linfoides (fig. 13-6). Después de un tiempo de tránsito breve de unos 30 min en la sangre, alrededor de 45% de todos ellos pasa de la sangre directamente al bazo, donde residen durante unas 5 h. Números casi iguales (42%) de estas células salen de la sangre hacia diversos ganglios linfáticos periféricos, en los que residen durante unas 12 h. Un número más pequeño de linfocitos (10%) migra hacia tejidos extralinfoides terciarios cruzando entre las células epiteliales que revisten los capilares. En condiciones normales estos tejidos contienen a lo mucho unas cuantas células linfoides, hasta que una reacción inflamatoria induce su importación. Los tejidos extralinfoides terciarios con mayor actividad inmunitaria son los que establecen interfaces con el ambiente externo, como la piel y los diversos epitelios mucosos de las vías gastrointestinales, respiratorias y genitourinarias.

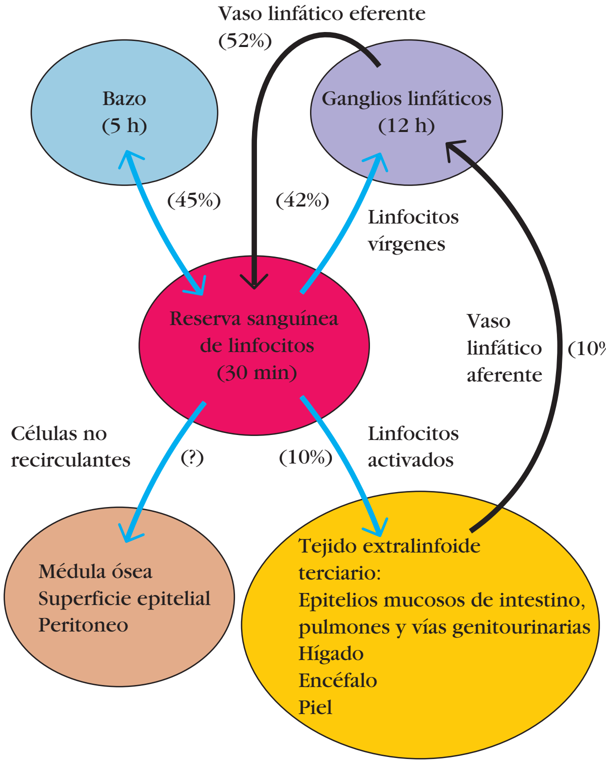


FIGURA 13-6 Vías de recirculación de los linfocitos. Se indican el porcentaje de la reserva de linfocitos que circula hacia los diversos sitios y los tiempos de tránsito promedio en los sitios principales. Los linfocitos migran de la sangre a los ganglios linfáticos a través de zonas especializadas de las vénulas poscapilares denominadas vénulas con endotelio alto (endotelio venular alto, HEV). Aunque la mayor parte de los linfocitos circula, al parecer algunos sitios contienen linfocitos que no lo hacen. *[Adaptada de A. Ager, 1994,* Trends in Cell Biology ***4****:326.]*

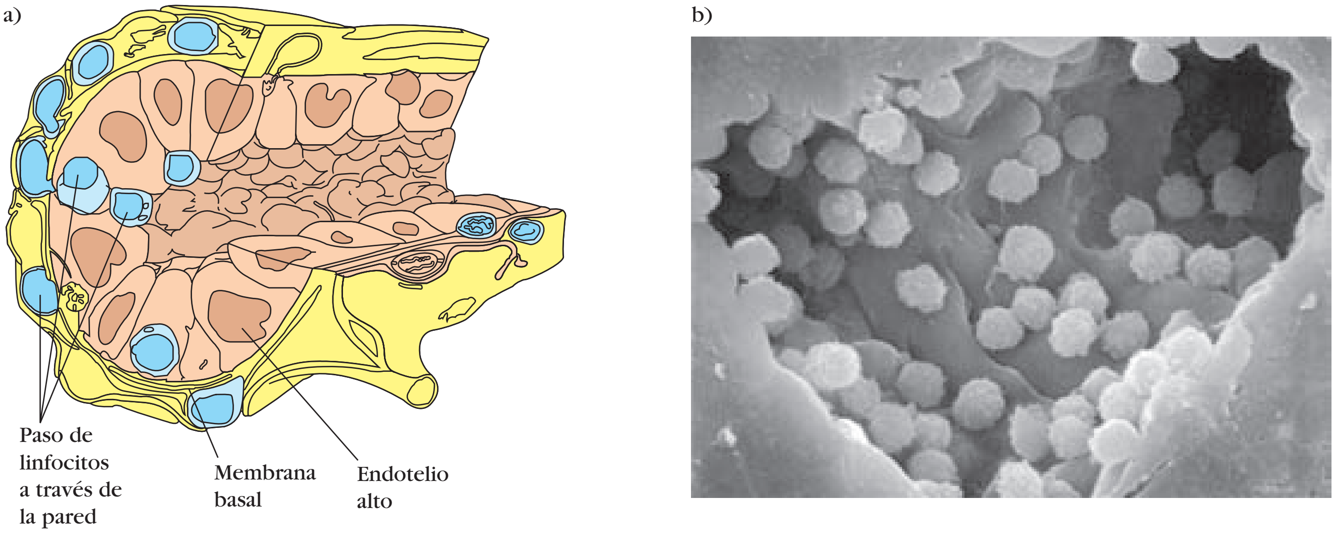
El proceso de recirculación continua de los linfocitos permite que el máximo de linfocitos comprometidos antigénicamente encuentren antígeno. Un linfocito individual puede efectuar un circuito completo desde la sangre hacia los tejidos y la linfa y de nuevo a la sangre una o dos veces al día. Dado que sólo alrededor de uno de 10^5 linfocitos reconoce un antígeno particular, parece necesario que sean muchas las células T o B que hagan contacto con antígeno en una célula presentadora de antígeno dada dentro de un breve lapso para generar una reacción inmunitaria específica. Las probabilidades de que porcentajes pequeños de linfocitos comprometidos con un antígeno determinado realmente hagan contacto con ese antígeno cuando está presente son elevadas a causa de la recirculación extensa de estas células. La probabilidad de que ocurran estos contactos aumenta en grado sustancial por efecto de factores que regulan, organizan y dirigen la circulación de los linfocitos y las células presentadoras de antígeno.

Extravasación de linfocitos

Diversos subconjuntos de linfocitos exhiben extravasación dirigida hacia los sitios inflamados y los órganos linfoides secundarios. De este modo, la recirculación de estas células se encuentra bajo control cuidadoso para garantizar que poblaciones apropiadas de células B y T se recluten hacia los diferentes tejidos. Como sucede con los neutrófilos, la extravasación de los linfocitos comprende interacciones entre cierto número de moléculas de adhesión celular (cuadro 13-1). El proceso global es semejante al de la extravasación de los neutrófilos y comprende las mismas cuatro etapas de contacto y rodamiento, activación, paro y adhesión, y por último migración transendotelial.

Las vénulas con endotelios altos (endotelios venulares altos, HEV) son sitios de extravasación de linfocitos

Algunas regiones del endotelio vascular de las vénulas poscapilares de diversos órganos linfoides están compuestas por células especializadas que tienen forma cuboide llena ("altas"); tales regiones se denominan vénulas endoteliales altas o **endotelio venular alto** (**HEV**, del inglés *high-endothelial venules*) (fig. 13-7a, b). El aspecto de sus células contrasta de manera notoria con el de las células endoteliales aplanadas que revisten el resto del capilar. Cada uno de los órganos linfoides secundarios, con excepción del bazo, contiene HEV. Cuando cortes por congelación



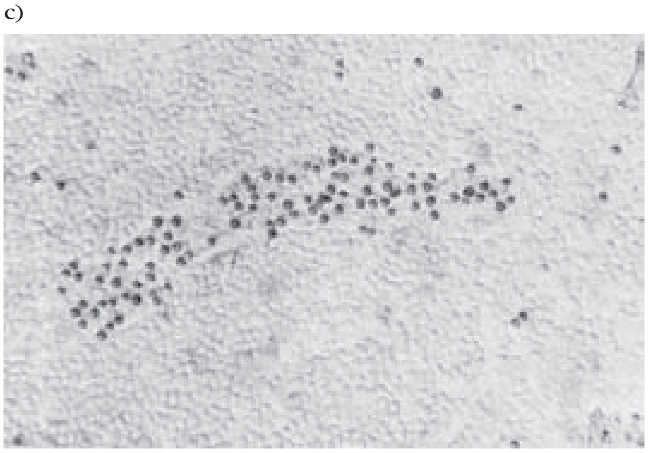


FIGURA 13-7 a) Corte transversal esquemático de una vénula poscapilar de ganglio linfático con endotelio alto. Se ilustran los linfocitos en diversas etapas de adhesión al HEV y su migración a través de la pared hacia la corteza del ganglio. b) Micrografía electrónica de barrido que muestra numerosos linfocitos fijos a la superficie de un endotelio venular alto. c) Micrografía de corte por congelación de un tejido linfoide. Cerca de 85% de los linfocitos (teñidos de color oscuro) se encuentran fijos a HEV (en corte transversal), que comprenden sólo 1 a 2% del área total del corte tisular. *[Parte a adaptada de A. O. Anderson y N. D. Anderson, 1981, en* Cellular Functions in Immunity and Inflammation, *J. J. Oppenheim et al. (eds.), Elsevier, North-Holland; parte b de S. D. Rosen y L. M. Stoolman, 1987,* Vertebrate Lectins, *Van Nostrand Reinhold; parte c de S. D. Rosen, 1989,* Current Opinion in Cell Biology ***1****:913.]*

de ganglios linfáticos, placas de Peyer o amígdalas se incuban con linfocitos y se lavan para eliminar las células que no están fijas, cerca de 85% de las células que se fijaron se encuentran adheridas a los HEV, aunque estas vénulas constituyen sólo 1 a 2% del área total del corte por congelación (fig. 13-7c).

Se ha estimado que hasta 1.4×10^4 linfocitos se extravasan cada segundo a través de los HEV hacia un solo ganglio linfático. Las citocinas que se producen en respuesta a la captación de antígeno influyen en el desarrollo y la conservación de los HEV en los órganos linfoides. Por ejemplo, los animales criados en un ambiente libre de microorganismos no desarrollan HEV. El papel de la activación antigénica de los linfocitos en la conservación de los HEV se demostró al bloquear de manera quirúrgica los vasos linfáticos aferentes de un ganglio, lo que impidió la entrada de ese antígeno en el ganglio. En un plazo breve los HEV presentan disfunción y por último retornan a la morfología más aplanada.

Los HEV expresan diversas moléculas de adhesión celular. Como otras células endoteliales vasculares, expresan CAM de la familia de la selectina (selectinas E y P), la familia tipo mucina (GlyCAM-1 y CD34) y la superfamilia de la inmunoglobulina (ICAM-1, ICAM-2, ICAM-3, VCAM-1 y MAdCAM-1). Algunas moléculas de adhesión que se distribuyen de manera específica de tejido se denominan **adresinas vasculares (VA)** porque sirven para dirigir la extravasación de poblaciones diferentes de linfocitos recirculantes hacia órganos linfoides particulares.

En la figura 13-8 se ilustran las interacciones típicas que ocurren en la extravasación de células T vírgenes a través de los HEV hacia los ganglios linfáticos. El primer paso suele ser una interacción selectina-carbohidrato similar a la que se observa en la adhesión de neutrófilos. Los linfocitos vírgenes se unen inicialmente a HEV por medio de selectina L, que sirve como receptor de direccionamiento el cual dirige los linfocitos hacia tejidos específicos que expresan una adresina vascular tipo mucina correspondiente, como CD34 o GlyCAM-1. El rodamiento de los linfocitos es menos pronunciado que el de los neutrófilos. Aunque la interacción selectina-carbohidrato inicial es muy débil, la lentitud del flujo sanguíneo en las vénulas poscapilares, en particular en las regiones de HEV, reduce la probabilidad de que la fuerza cortante de la sangre que fluye desprenda el linfocito fijado.

En el segundo paso, un estímulo activador de integrina es mediado por citocinas que se localizan en la superficie endotelial o se secretan localmente. La gruesa cubierta de glucocáliz de los HEV suele tener el efecto de retener estos factores quimioatrayentes solubles en los HEV. La unión de quimiocina a recep-

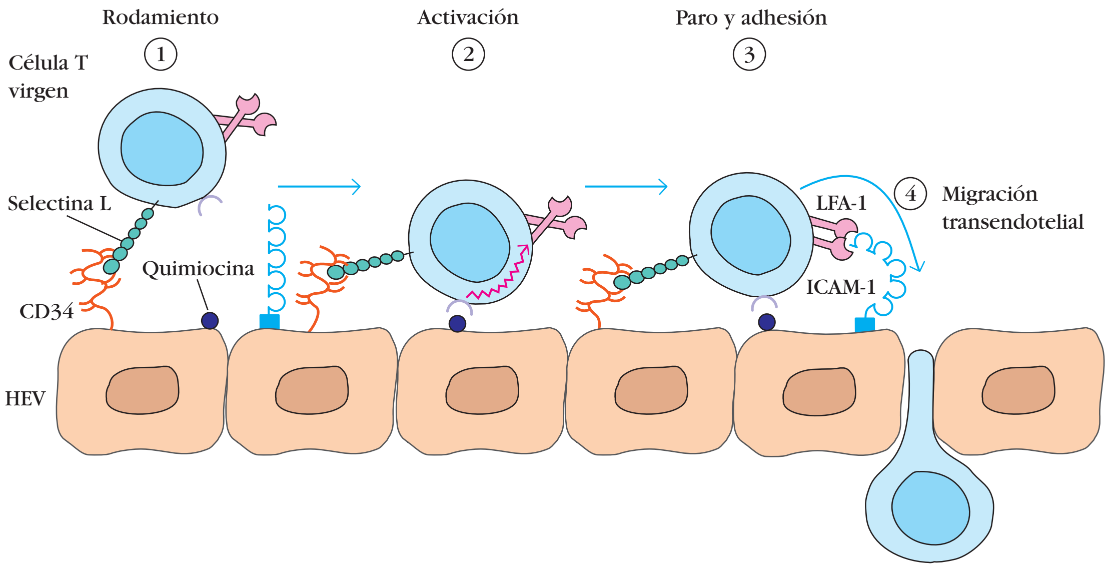


FIGURA 13-8 Etapas en la extravasación de una célula T virgen a través de un endotelio venular alto hacia el interior de un ganglio linfático. La extravasación de linfocitos se caracteriza por las mismas etapas básicas que la extravasación de los neutrófilos, pero algunas de las moléculas de adhesión celular son diferentes. La activación de la integrina LFA-1, inducida por la fijación de quimiocina al linfocito, da por resultado la adhesión firme seguida por migración entre las células endoteliales hacia el tejido.

tores acoplados a proteína G en el linfocito causa la activación de moléculas de integrina en la membrana, como ocurre en la extravasación de neutrófilos. Una vez activadas, las moléculas de integrina interactúan con las moléculas de adhesión de la superfamilia de las Ig (p. ej., ICAM-1), con lo que permiten que el linfocito se adhiera firmemente al endotelio. Se piensa que en los mecanismos moleculares implicados en el paso final, la migración transendotelial, participan las moléculas de adhesión a células de unión PECAM-1 (CD31) y JAM-1 (CD321).

El direccionamiento (tráfico) de los linfocitos es guiado por perfiles y señales de los receptores

El proceso general de la extravasación de los linfocitos es similar al de la extravasación de los neutrófilos. Un aspecto importante que distingue los dos procesos es que subconjuntos distintos de linfocitos migran de manera diferencial hacia tejidos diversos. Este proceso se conoce como **direccionamiento** o **tráfico**. Los distintos patrones de direccionamiento de los subconjuntos de linfocitos están mediados por combinaciones únicas de moléculas de adhesión y quimiocinas; los receptores que dirigen la circulación de las diversas poblaciones de linfocitos hacia tejidos linfoides e inflamatorios particulares se denominan **receptores de direccionamiento**.

Los linfocitos vírgenes recirculan hacia tejido linfoide secundario

El linfocito virgen no es capaz de montar una inmunorreacción sino hasta que se activa para convertirse en célula efectora. La activación de la célula inmadura ocurre en microambientes especializados dentro del tejido linfoide secundario (p. ej., ganglios linfáticos periféricos, placas de Peyer, amígdalas y bazo). Dentro de estos microambientes las células dendríticas captan el antígeno y lo presentan al linfocito virgen, lo que produce su activación. Las células inmaduras no muestran preferencia por un tipo particular de tejido linfoide secundario sino que circulan de manera indistinta hacia tejidos linfoides secundarios de todo el cuerpo.

Generalmente la fijación inicial de los linfocitos vírgenes a los HEV es mediada por la fijación de la selectina L a moléculas de adhesión como GlyCAM-1 y CD34 sobre los HEV (fig. 13-8a). En fecha reciente se observó que CD11a/CD18 (LFA-1, αLβ2) y CD49d/CD18 (VLA-4, α4β1) también median en rodamiento en su conformación de baja afinidad (antes de la activación). Las quimiocinas CCL21, CCL19 y CXCL12 promueven la adhesión firme de las células T vírgenes al HEV tanto por cambio a la conformación de alta afinidad como por agregación de CD11a/CD18 (LFa-1) y CD49d/CD18 (VLA-4). Además de estas quimiocinas, CXCL13 activa integrinas en células B vírgenes. Otras quimiocinas atraen las subpoblaciones de linfocitos a sus zonas dentro de los ganglios linfáticos. El patrón de tráfico de las células inmaduras tiene como finalidad mantenerlas en recirculación constante por el tejido linfoide secundario, cuya función primaria es atrapar los antígenos contenidos en la sangre o los tejidos.

Una vez que los linfocitos vírgenes encuentran antígeno atrapado en el tejido linfoide secundario, se activan (maduran) y aumentan de tamaño hasta convertirse en linfoblastos. La activación o maduración toma unas 48 h y durante este tiempo las células blásticas se retienen en la región paracortical del tejido linfoide secundario. Durante esta fase, llamada de "apagado", los linfocitos específicos de antígeno no pueden identificarse en la circulación (fig. 13-9), y ocurren proliferación y diferenciación rápidas de las células inmaduras. Las células efectoras y de memoria que se generan durante este proceso (que se describe en detalle en el cap. 11) dejan después el tejido linfoide y empiezan a recircular.

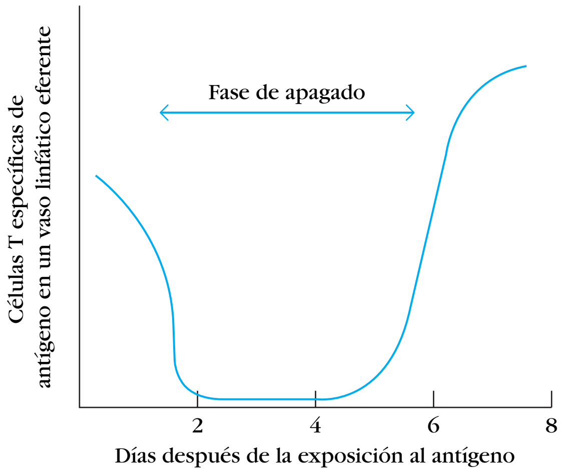


FIGURA 13-9 La activación de las células T en la región paracortical de un ganglio linfático produce pérdida breve de la recirculación de los linfocitos. Durante esta fase de apagado no pueden identificarse células T específicas de antígeno que salgan del ganglio por el vaso linfático eferente.

Los linfocitos efectores y de memoria adoptan patrones de tráfico distintos

Los patrones de tráfico de los linfocitos efectores y de memoria difieren de los propios de los linfocitos vírgenes. Las células efectoras tienden a albergarse en las regiones infectadas al reconocer el endotelio vascular inflamado y las moléculas quimioatrayentes que se generan durante la reacción inflamatoria. En contraste, los linfocitos de memoria se dirigen de manera selectiva hacia el tipo de tejido en el que encontraron por primera vez al antígeno. Al parecer esto garantiza que una célula de memoria particular vuelva al tejido en el que es más posible que reencuentre una amenaza ulterior por el antígeno que reconoce.

Las células efectoras y de memoria expresan concentraciones mayores de ciertas moléculas de adhesión celular, como LFA-1, que interactúan con ligandos presentes en los tejidos extralinfoides terciarios (como piel y epitelios mucosos) y en los sitios de la inflamación, lo que permite que las células efectoras y de memoria ingresen en estos sitios. El endotelio inflamado expresa diversas moléculas de adhesión, inclusive selectinas E y P, y las moléculas VCAM-1 e ICAM-1 de la superfamilia de las Ig, que se fijan a los receptores expresados en grandes concentraciones sobre las células de memoria y efectoras.

A diferencia de los linfocitos vírgenes, los subconjuntos de poblaciones de células de memoria y efectoras exhiben una conducta de direccionamiento selectiva de tejidos. Esta especificidad tisular es impartida por el repertorio de receptores de citocina expresados en la superficie de la célula de memoria o efectora y la quimiocina presentada en el endotelio. Además, algunos tejidos exhiben grupos únicos de moléculas de adhesión que ayudan a seleccionar el subconjunto de efectores. Por ejemplo, las células de memoria y efectoras de un subconjunto de direccionamiento hacia mucosa tienen concentraciones elevadas de las integrinas $\alpha4\beta7$ (LPAM-1) y CD11a/CD18 (LFA-1, $\alpha L\beta2$), que se unen a MAdCAM y diversas ICAM sobre las vénulas de la lámina propia intestinal (fig. 13-10a). Sin embargo, estas células evitan dirigirse hacia tejidos linfoides secundarios porque tienen concentraciones bajas de selectina L que facilitarían su entrada en estos tejidos linfoides. En cambio, estas células expresan el receptor de quimiocina CCR9, que se une a CCL25 en el intestino delgado. Las células B secretoras de IgA son reclutadas en el tejido intestinal a través de CCL25 y CCL28. Un segundo subconjunto de células de memoria/efectoras exhiben direccionamiento preferencial hacia la piel. Este subconjunto también expresa concentraciones bajas de selectina L pero elevadas de antígeno linfocítico cutáneo (CLA) y CD11a/CD18, que fijan la selectina E y las ICAM en las vénulas dérmicas de la piel (fig. 13-10b). CCL17, CCL27 y CCL1 ayudan en el reclutamiento de estas células T. Aunque las células efectoras y de memoria que expresan concentraciones reducidas de selectina L no tienden a dirigirse a través de los HEV hacia los ganglios linfáticos periféricos, pueden ingresar en ellos a través de los vasos linfáticos aferentes.

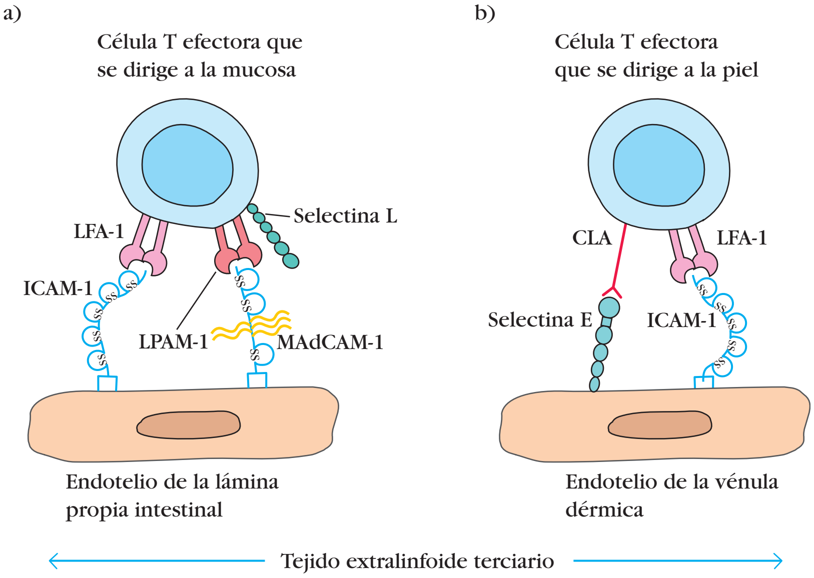

a)
Célula T efectora que se dirige a la mucosa
Selectina L
LFA-1
ICAM-1
LPAM-1
MAdCAM-1
Endotelio de la lámina propia intestinal
b)
Célula T efectora que se dirige a la piel
CLA
LFA-1
Selectina E
ICAM-1
Endotelio de la vénula dérmica
Tejido extralinfoide terciario

FIGURA 13-10 Ejemplos de receptores de direccionamiento y adresinas vasculares que participan en el tráfico selectivo de células T vírgenes y efectoras. Diversos subconjuntos de células T efectoras expresan concentraciones altas de receptores de direccionamiento particulares que les permiten viajar hacia el endotelio en tejidos extralinfoides terciarios particulares. Se ilustran las interacciones iniciales en el direccionamiento de las células T efectoras hacia (a) sitios en las mucosas y (b) la piel.

Otros mediadores de la inflamación

Además de las quimiocinas, otros mediadores liberados por las células de los sistemas inmunitarios innato y adquirido desencadenan o intensifican aspectos específicos de la reacción inflamatoria. Son liberados por células como mastocitos celulares, plaquetas de la sangre y diversos leucocitos, entre ellos neutrófilos, monocitos/macrófagos, eosinófilos, basófilos y linfocitos. Además de estas fuentes celulares, el plasma cuenta con cuatro sistemas productores de mediadores interconectados: éstos son los sistemas de cininas, de la coagulación, fibrinolítico y del complemento. Los tres primeros comparten un intermediario, el factor de Hageman (factor XII), como se ilustra en la figura 13-11. Cuando ocurre lesión tisular, estos cuatro sistemas se activan para formar una red de sistemas en interacción que genera diversos mediadores inflamatorios.

La lesión tisular activa el sistema de las cininas

El sistema de las cininas es una cascada enzimática que se inicia cuando un factor de la coagulación del plasma, el factor de Hageman (factor XII), se activa después de la lesión tisular. Este factor activado a su vez activa la precalicreína para formar calicreína, que escinde el cininógeno para producir **bradicinina** (fig. 13-11). Este péptido potente que incrementa la permeabilidad celular produce vasodilatación e induce dolor y contracción del músculo liso. La calicreína actúa además de manera directa sobre el sistema del complemento mediante la escisión de su componente C5 en las fracciones C5a y C5b.

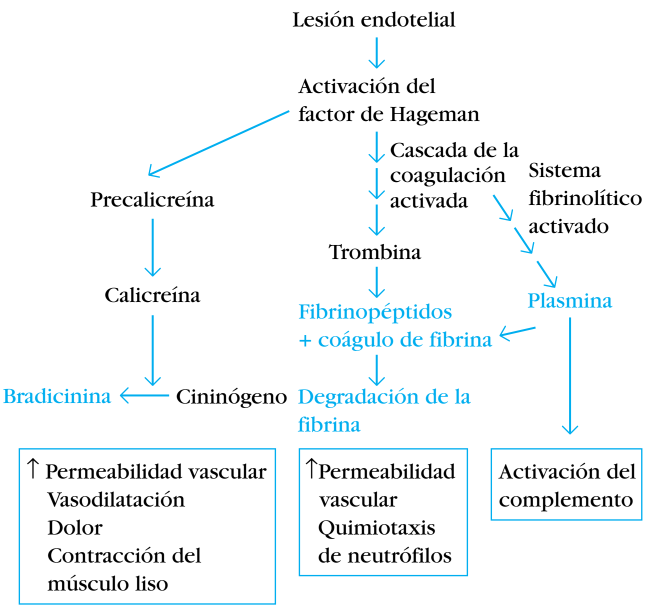

Lesión endotelial
Activación del factor de Hageman
Precalicreína
Cascada de la coagulación activada
Sistema fibrinolítico activado
Trombina
Calicreína
Plasmina
Fibrinopéptidos + coágulo de fibrina
Bradicinina
Cininógeno
Degradación de la fibrina
↑ Permeabilidad vascular
Vasodilatación
Dolor
Contracción del músculo liso
↑Permeabilidad vascular
Quimiotaxis de neutrófilos
Activación del complemento

FIGURA 13-11 La lesión tisular induce formación de mediadores enzimáticos plasmáticos por el sistema de las cininas, el sistema de la coagulación y el sistema fibrinolítico. Estos mediadores producen cambios vasculares, entre los signos más tempranos de inflamación, y otros efectos diversos. La plasmina no sólo degrada los coágulos de fibrina, también activa la vía clásica del complemento.

El sistema de la coagulación proporciona mediadores de la inflamación generados por la fibrina

Otra cascada enzimática que se desencadena tras la lesión de los vasos sanguíneos produce grandes cantidades de trombina. El inicio de una reacción inflamatoria también activa el sistema de la coagulación a través de una interacción entre selectina P y PSGL-1, acompañada de la liberación de factor tisular desde los monocitos activados. La trombina actúa sobre el fibrinógeno soluble del líquido tisular o el plasma para producir bandas insolubles de **fibrina** y **fibrinopéptidos**. Las bandas de fibrina insoluble se entrecruzan para formar un **coágulo**, que sirve como barrera a la difusión de la infección. El sistema de la coagulación se activa con mucha rapidez tras la lesión tisular para prevenir la hemorragia y limitar el paso de los agentes patógenos invasores hacia la sangre circulante. Los fibrinopéptidos actúan como mediadores de la inflamación que inducen aumento de la permeabilidad vascular y quimiotaxis de los neutrófilos. Las plaquetas activadas liberan CD40L, lo que incrementa la producción de citocinas proinflamatorias, IL-6 e IL-8, y la expresión de moléculas de adhesión. La integrina CD11b/CD18 (MAC-1) se une a dos componentes del sistema de la coagulación, factor X y fibrinógeno. La unión de factor X a CD11b/CD18 incrementa la actividad del primero, lo cual promueve la coagulación.

El sistema fibrinolítico proporciona mediadores de la inflamación generados por la plasmina

El sistema fibrinolítico se encarga de la remoción del coágulo de fibrina del tejido lesionado. El producto terminal de esta vía es la enzima **plasmina**, que se forma mediante la conversión del plasminógeno. Al parecer el activador de plasminógeno tipo urocinasa (uPA) y su receptor, u-PAR, también participan en la unión del leucocito al endotelio y la matriz extracelular. La plasmina, una enzima proteolítica potente, desintegra los coágulos de fibrina en productos de degradación que son quimiotácticos para los neutrófilos. La plasmina contribuye también a la reacción inflamatoria al activar la vía clásica o común del complemento.

El sistema del complemento produce anafilatoxinas

La activación del sistema del complemento por las vías tanto clásica como alternativa resulta en la formación de diversos productos del desdoblamiento del complemento que funcionan como mediadores importantes de la inflamación (cap. 7). La fijación de las **anafilatoxinas** (C3a y C5a) a receptores de la membrana del mastocito tisular induce desgranulación de éste con liberación de histamina y otros mediadores con actividad farmacológica. Estos mediadores inducen contracción del músculo liso y aumento de la permeabilidad vascular. Las anafilatoxinas C3a, C5a y C5b67 actúan en conjunto para promover la adhesión de monocitos y neutrófilos a las células del endotelio vascular, su extravasación por la túnica endotelial del capilar y su migración hacia el sitio de activación del complemento en los

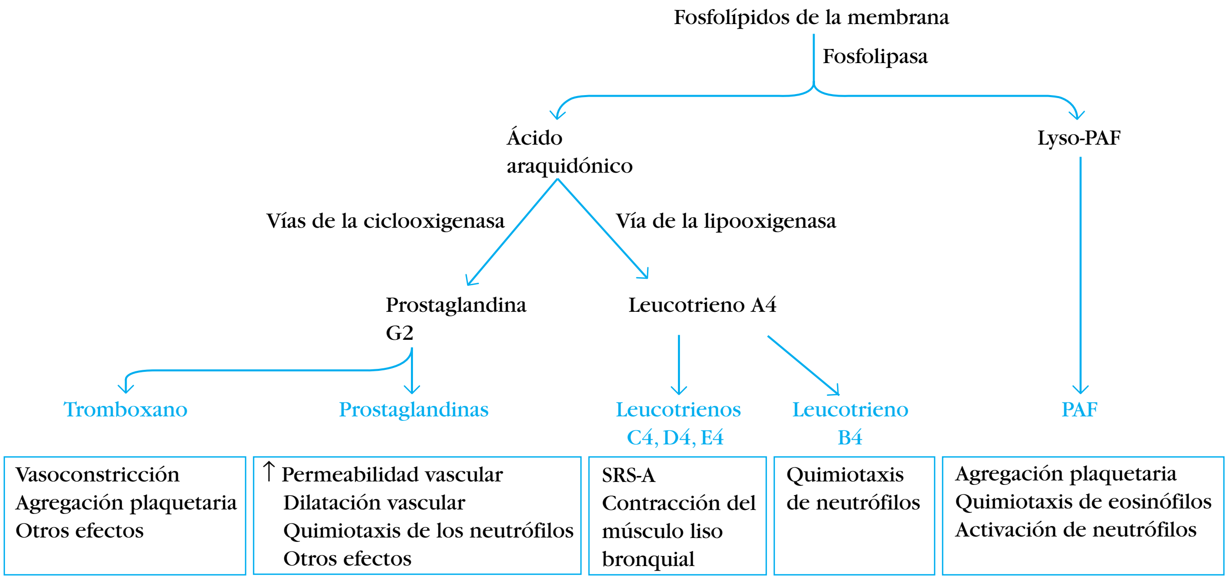

Fosfolípidos de la membrana
Fosfolipasa
Ácido araquidónico
Lyso-PAF
Vías de la ciclooxigenasa
Vía de la lipooxigenasa
Prostaglandina G2
Leucotrieno A4
Tromboxano
Prostaglandinas
Leucotrienos C4, D4, E4
Leucotrieno B4
PAF
Vasoconstricción
Agregación plaquetaria
Otros efectos
↑ Permeabilidad vascular
Dilatación vascular
Quimiotaxis de los neutrófilos
Otros efectos
SRS-A
Contracción del músculo liso bronquial
Quimiotaxis de neutrófilos
Agregación plaquetaria
Quimiotaxis de eosinófilos
Activación de neutrófilos

FIGURA 13-12 La desintegración de los fosfolípidos de la membrana genera mediadores importantes de la inflamación, como tromboxano, prostaglandinas, leucotrienos y factor activador de plaquetas (PAF).

tejidos. De este modo, la activación del sistema del complemento causa la entrada de líquido que lleva anticuerpos y células fagocíticas en los sitios en que el antígeno ingresó.

Algunos lípidos actúan como mediadores de la inflamación

Después de las perturbaciones de la membrana, fosfolípidos presentes en las membranas de diversas clases de células (p. ej., macrófagos, monocitos, neutrófilos y mastocitos) se degradan hasta ácido araquidónico y factor lisoactivador de plaquetas (lyso-PAF; fig. 13-12). Luego este último se convierte en factor activador de plaquetas (PAF) que, como su nombre lo indica, activa las plaquetas y tiene muchos efectos inflamatorios, incluso quimiotaxis de los eosinófilos y activación y desgranulación de éstos y de los neutrófilos.

El metabolismo del ácido araquidónico por la vía de la ciclooxigenasa produce **prostaglandinas** y **tromboxanos**. Diferentes células elaboran prostaglandinas distintas: los monocitos y macrófagos sintetizan grandes cantidades de PGE2 y PGF2, los neutrófilos producen cantidades moderadas de PGE2 y los mastocitos elaboran PGD2. Las prostaglandinas poseen efectos fisiológicos diversos, entre ellos incremento de la permeabilidad vascular y de la dilatación vascular, e inducción de la quimiotaxis de los neutrófilos. Los tromboxanos causan agregación plaquetaria y constricción de los vasos sanguíneos.

El ácido araquidónico se metaboliza también por la vía de la lipooxigenasa para producir los cuatro **leucotrienos**: LTB4, LTC4, LTD4 y LTE4. Tres de éstos (LTC4, LTD4 y LTE4) constituyen en conjunto lo que antes se llamaba **sustancia de anafilaxis de reacción lenta** (**SRS-A**, del inglés *slow-reacting substance of anaphylaxis*); estos mediadores inducen contracción del músculo liso. El LTB4 es un quimioatrayente poderoso de los neutrófilos. Diversos tipos de células, como monocitos, macrófagos y mastocitos, producen leucotrienos.

Algunas citocinas son mediadores importantes de la inflamación

Ciertas clases de citocinas desempeñan una función de importancia en el desarrollo de las reacciones inflamatorias agudas o crónicas. Interleucina 1 (IL-1), IL-6, TNF-α, IL-12 y muchas quimiocinas ejercen efectos redundantes y pleiotrópicos que contribuyen en conjunto a la reacción inflamatoria. En el cuadro 13-3 se enumeran algunos de los efectos mediados por IL-1,

CUADRO 13-3 Efectos redundantes y pleiotrópicos de IL-1, TNF-α e IL-6

Efecto	IL-1	TNF-α	IL-6
Pirógeno (inductor de fiebre)	+	+	+
Síntesis de proteínas de fase aguda por el hígado	+	+	+
Aumento de la permeabilidad vascular	+	+	+
Aumento de las moléculas de adhesión sobre el endotelio vascular	+	+	−
Proliferación de fibroblastos	+	+	−
Producción de plaquetas	+	−	+
Inducción de quimiocinas (p. ej., IL-8)	+	+	−
Inducción de IL-6	+	+	−
Activación de células T	+	+	+
Activación de células B	+	+	+
Aumento de la síntesis de inmunoglobulina	−	−	+

IL-6 y TNFα. El IFN-γ también contribuye a la reacción inflamatoria; actúa hacia la parte tardía de la fase aguda de esta reacción y participa de manera importante en la inflamación crónica al atraer macrófagos y activarlos. La IL-12 induce la diferenciación de las células proinflamatorias del subconjunto T_H1. Las funciones de varias de estas citocinas inflamatorias en el desarrollo de la inflamación aguda y crónica se describen en la siguiente sección.

Proceso inflamatorio

La inflamación es una respuesta fisiológica a diversos estímulos, como infecciones y lesión tisular. En general la reacción inflamatoria aguda tiene un inicio rápido y dura poco. Suele acompañarse de una respuesta generalizada que se conoce como reacción de fase aguda y se caracteriza por alteración rápida de las concentraciones de varias proteínas plasmáticas. En algunas enfermedades la activación inmunológica persistente puede ocasionar inflamación crónica, que a menudo tiene consecuencias patológicas.

Los neutrófilos tienen un papel temprano e importante en la inflamación

El neutrófilo es el tipo de célula infiltrativa de los tejidos que predomina durante las etapas iniciales de la reacción inflamatoria. La infiltración tisular por este leucocito llega a su máximo dentro de las primeras 6 h de la reacción inflamatoria, con producción creciente de neutrófilos en la médula ósea para satisfacer esta necesidad. El adulto normal produce más de 10^{10} neutrófilos al día, pero esta producción puede elevarse hasta 10 veces durante el período de inflamación aguda.

Los neutrófilos dejan la médula ósea y circulan en la sangre. Las células endoteliales vasculares aumentan su expresión de selectinas E y P en respuesta a los mediadores de la inflamación aguda. La trombina y la histamina inducen aumento de la expresión de selectina P; por su parte citocinas como IL-1 y TNF-α inducen incremento de la expresión de selectina R. Los neutrófilos circulantes expresan mucinas como PSGL-1 o los tetrasacáridos sialilo de Lewis^a y sialilo de Lewis^x, que fijan las selectinas E y P.

Como se describió antes, esta fijación media la adhesión o el enclavamiento de los neutrófilos al endotelio vascular y permite que las células rueden en el sentido de la corriente sanguínea. Durante este período quimiocinas como IL-8 u otros quimioatrayentes actúan sobre los neutrófilos y disparan una señal activadora mediada por proteínas G que produce un cambio de la configuración de las moléculas de adhesión de la integrina, cuyo resultado es la adhesión de neutrófilos y la subsecuente migración transendotelial (fig. 13-5).

Una vez en los tejidos, los neutrófilos activados expresan también mayores concentraciones de receptores para los quimioatrayentes y por tanto migran corriente arriba por un gradiente del quimioatrayente. Los mediadores inflamatorios que son quimiotácticos para los neutrófilos comprenden diversas quimiocinas, productos del desdoblamiento del complemento (C3a, C5a y C5b67), fibrinopéptidos, prostaglandinas y leucotrienos, así como algunas moléculas liberadas por microorganismos, como formilmetionilpéptidos. Ciertas moléculas liberadas por microorganismos, como los formilmetionilpéptidos, también son quimiotácticas para los neutrófilos. Los neutrófilos activados expresan incremento de las concentraciones de receptores Fc para los anticuerpos y de receptores para el complemento, que permiten a estas células fijarse con más firmeza a los agentes patógenos cubiertos por anticuerpo o complemento y en consecuencia aumentan la fagocitosis.

Asimismo la señal activadora estimula las vías metabólicas para la explosión respiratoria, que produce **intermediarios reactivos de oxígeno** e **intermediarios reactivos de nitrógeno** (cap. 3). La liberación de algunos de estos intermediarios reactivos y la de mediadores de los gránulos primarios y secundarios de los neutrófilos (proteasas, fosfolipasas, elastasas y colagenasas) desempeñan una función de importancia para matar diversos agentes patógenos. Estas sustancias contribuyen además a la lesión tisular que puede ocurrir como resultado de la reacción inflamatoria. La acumulación de células y microorganismos muertos, junto con el líquido y varias proteínas acumulados, constituye lo que se conoce como pus.

Las reacciones inflamatorias pueden ser localizadas o generalizadas

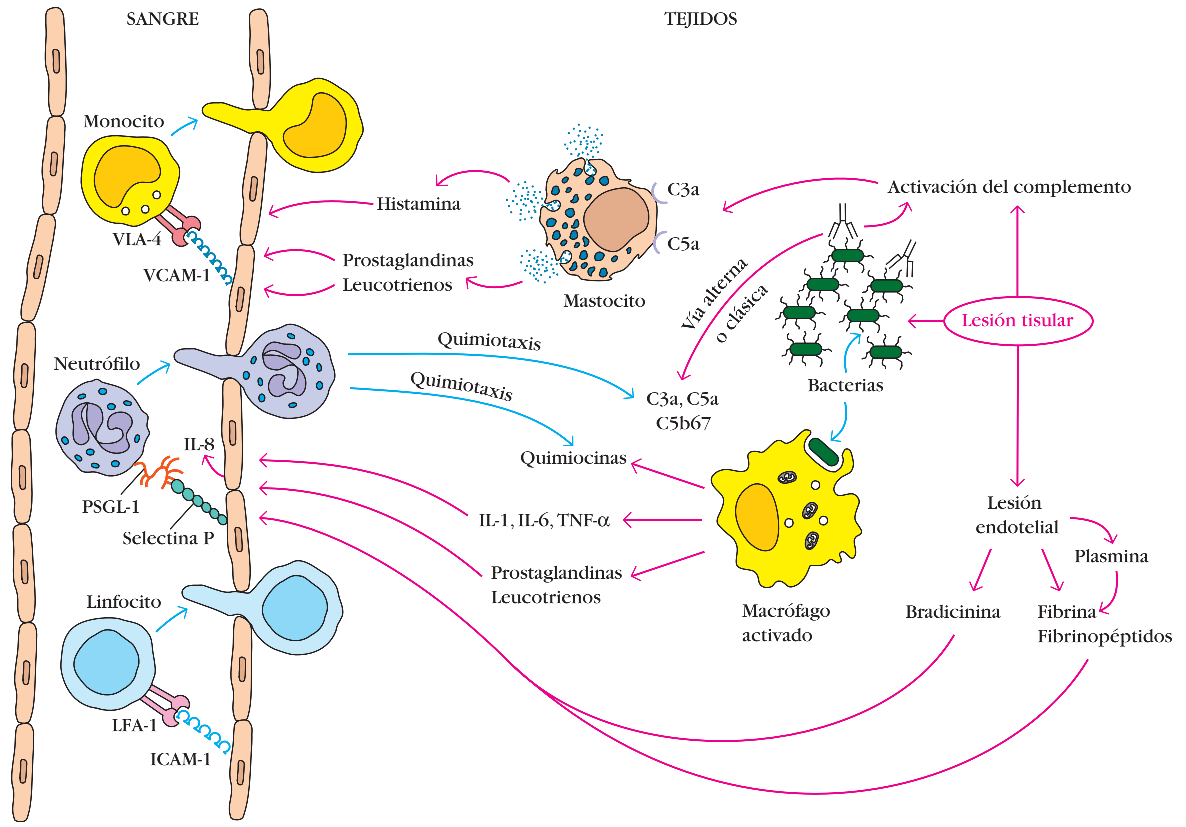
La reacción inflamatoria da protección temprana después de infecciones o lesiones tisulares al restringir el daño de los tejidos al sitio afectado. La reacción inflamatoria aguda comprende tanto reacciones localizadas como generalizadas, que se resumen en el capítulo 3.

Reacción inflamatoria localizada

Las piedras angulares de la reacción inflamatoria localizada, descritas por primera vez hace casi 2 000 años, son tumefacción (*tumor*), enrojecimiento (*rubor*), *calor, dolor* y pérdida de la función. Minutos después de la lesión tisular, el diámetro de los vasos sanguíneos aumenta (vasodilatación) y ello tiene como consecuencia aumento del volumen de sangre en la zona afectada y reducción de su flujo. Este aumento del volumen sanguíneo calienta el tejido en cuestión y lo torna rojo. También la permeabilidad vascular aumenta, lo que ocasiona fuga de líquido desde los vasos sanguíneos, en particular las vénulas poscapilares. El resultado es acumulación de líquido (**edema**) en el tejido y, en algunos casos, extravasación de leucocitos, que contribuyen a la tumefacción y el enrojecimiento del área afectada. Los sistemas de cininas, coagulación y fibrinolítico se activan cuando los vasos exudan líquido proveniente de la sangre circulante (fig. 13-11). Muchos de los cambios vasculares que ocurren de manera temprana durante la reacción local se deben a los efectos directos de enzimas plasmáticas mediadoras como la bradicinina y los fibrinopéptidos, que inducen vasodilatación y aumento de la permeabilidad vascular. Algunos de los cambios vasculares se deben a los efectos indirectos de las anafilatoxinas del complemento (C3a y C5a), que inducen desgranulación de los mastocitos que se encuentran en el sitio con liberación de histamina. La histamina, un mediador potente de la inflamación, produce vasodilatación y contracción del músculo liso. También las prostaglandinas pueden contribuir a la vasodilatación y el aumento de la permeabilidad vascular que acompañan a la reacción inflamatoria aguda.

Los neutrófilos se adhieren a las células endoteliales y emigran desde la sangre hacia los espacios tisulares unas cuantas

FIGURA 13-13 PARA VISUALIZACIÓN DE CONCEPTOS: Células y mediadores que participan en una reacción inflamatoria aguda local


SANGRE
TEJIDOS
Monocito
VLA-4
VCAM-1
Histamina
Prostaglandinas
Leucotrienos
C3a
C5a
Mastocito
Activación del complemento
Vía alterna
o clásica
Lesión tisular
Neutrófilo
Quimiotaxis
Quimiotaxis
C3a, C5a
C5b67
Bacterias
IL-8
PSGL-1
Selectina P
Quimiocinas
IL-1, IL-6, TNF-α
Prostaglandinas
Leucotrienos
Lesión
endotelial
Plasmina
Linfocito
Macrófago
activado
Bradicinina
Fibrina
Fibrinopéptidos
LFA-1
ICAM-1

La lesión tisular conduce a la formación de productos del complemento que actúan como opsoninas, anafilatoxinas y agentes quimiotácticos. La bradicinina y los fibrinopéptidos inducidos por la lesión endotelial median los cambios vasculares. En general los neutrófilos son los primeros leucocitos que migran hacia el tejido, seguidos por monocitos y linfocitos. Sólo se ilustran algunas de las interacciones que participan en la extravasación de los leucocitos.

horas después del inicio de los cambios vasculares (fig. 13-13). Estos neutrófilos fagocitan los agentes patógenos invasores y liberan mediadores que contribuyen a la reacción inflamatoria. Entre los mediadores se incluyen las proteínas inflamatorias de los macrófagos (MIP-1α y MIP-1β), quimiocinas que atraen los macrófagos al sitio de la inflamación. Los macrófagos arriban a este lugar 5 a 6 h después del comienzo de la reacción inflamatoria. Estos macrófagos son células activadas que muestran incremento de la fagocitosis y de la liberación de mediadores y citocinas que contribuyen a la inflamación.

Los macrófagos tisulares activados secretan tres citocinas (IL-1, IL-6 y TNF-α) que inducen muchos de los cambios locales y generales que se observan durante la reacción inflamatoria (cuadro 13-3). Las tres citocinas actúan a nivel local y promueven la coagulación y un incremento de la permeabilidad vascular. Tanto TNF-α como IL-1 inducen aumento de la expresión de moléculas de adhesión sobre las células endoteliales. Por ejemplo, el TNF-α estimula la expresión de selectina E, una molécula de adhesión endotelial que participa en la fijación selectiva de las diversas moléculas de adhesión a los neutrófilos. La IL-1 ocasiona aumento de la expresión de ICAM-1 y VCAM-1, que se fijan a las integrinas situadas sobre los linfocitos y los monocitos. Los neutrófilos, los monocitos y los linfocitos circulantes reconocen estas moléculas de adhesión sobre las paredes de los vasos sanguíneos, se adhieren a ellas y luego pasan a través de la pared vascular hacia los espacios tisulares. Tanto IL-1 como TNF-α actúan también sobre los macrófagos y las células endoteliales para facilitar la producción de las quimiocinas que contribuyen a la entrada de los neutrófilos en los tejidos al incrementar su adhesión a las células endoteliales vasculares y al actuar como factores quimiotácticos potentes. Además, IFN-γ y TNF-α activan macrófagos y neutrófilos, y promueven su actividad fagocítica y un incremento de la liberación de enzimas líticas hacia los espacios tisulares.

Una reacción inflamatoria aguda local puede ocurrir sin la participación manifiesta del sistema inmunitario. Sin embargo, a menudo las citocinas que se liberan en el sitio de la inflamación facilitan tanto la adhesión de las células del sistema inmunitario a las células endoteliales vasculares como su migración a través de la pared vascular hacia los espacios tisulares. El resultado es ingreso de linfocitos, neutrófilos, monocitos, eosinófilos, basófilos y mastocitos al sitio tisular lesionado, en el que estas células participan en la depuración del antígeno y la cicatrización de los tejidos.

La duración y la intensidad de la reacción inflamatoria aguda local deben regularse con cuidado para controlar la lesión tisular y facilitar los mecanismos reparadores necesarios para que los tejidos cicatricen. Está demostrado que el TGF-β desempeña un papel importante en la limitación de la reacción inflamatoria. Además promueve la acumulación y la proliferación de fibroblastos, y el depósito de una matriz extracelular que la reparación tisular apropiada requiere.

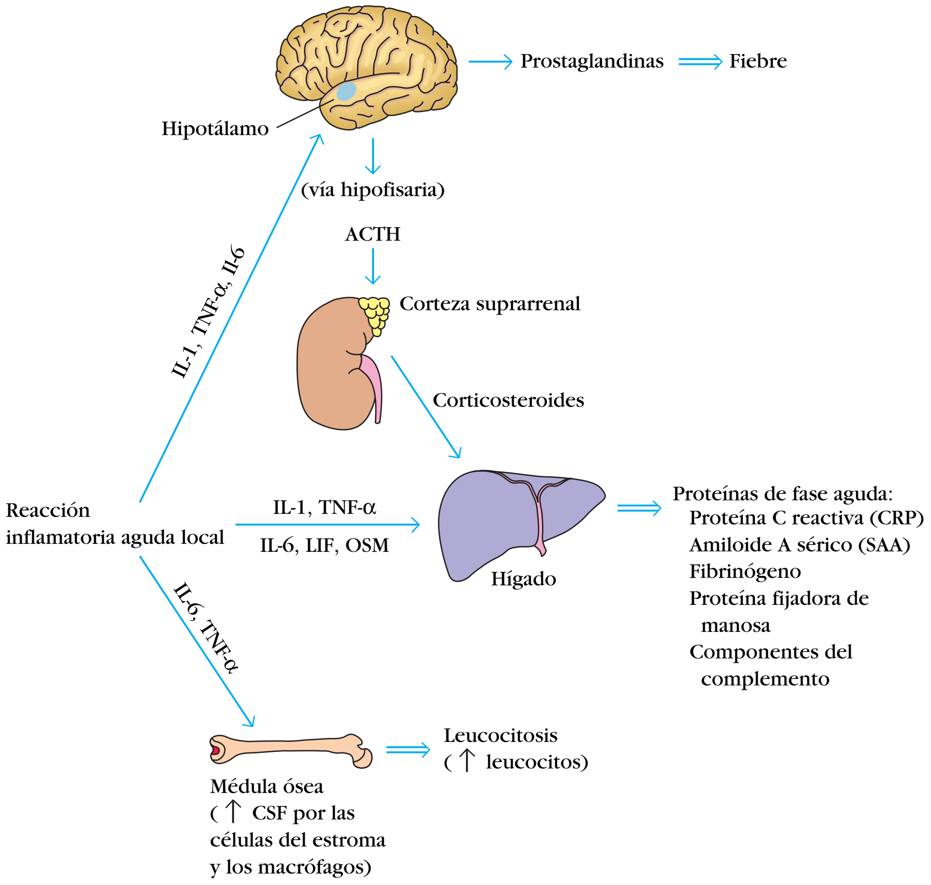
No hay duda de que los procesos de adhesión de los leucocitos son cruciales durante la reacción inflamatoria. La falla de la adhesión apropiada de los leucocitos puede ocasionar enfermedad, como lo ejemplifica la deficiencia de adhesión leucocítica (véase el enfoque clínico).

Reacción general de fase aguda

La reacción inflamatoria local se acompaña de una respuesta sistémica o general conocida como **reacción de fase aguda** (fig. 13-14). Se caracteriza por inducción de fiebre, aumento de la síntesis de hormonas como ACTH e hidrocortisona, elevación de la producción de leucocitos (leucocitosis) y elaboración de gran cantidad de **proteínas de fase aguda** en el hígado. El aumento de la temperatura corporal inhibe el desarrollo de diversos agentes patógenos y al parecer fomenta la reacción inmunitaria a estos agentes.

La proteína C reactiva es un prototipo de proteína de fase aguda cuya concentración sérica se incrementa 1 000 veces durante la reacción de fase aguda. Está compuesta por cinco polipéptidos idénticos que se mantienen unidos entre sí por medio de interacciones no covalentes. La proteína C reactiva se fija a gran variedad de microorganismos y activa el complemento, lo que da por resultado depósito de la opsonina C3b sobre la superficie de los gérmenes. Las células fagocíticas, que expresan el

FIGURA 13-14 PARA VISUALIZACIÓN DE CONCEPTOS: Órganos y mediadores que participan en una reacción sistémica de fase aguda


Prostaglandinas
Fiebre
Hipotálamo
(vía hipofisaria)
ACTH
Corteza suprarrenal
Corticosteroides
IL-1, TNF-α, Il-6
Reacción inflamatoria aguda local
IL-1, TNF-α
IL-6, LIF, OSM
Hígado
Proteínas de fase aguda:
Proteína C reactiva (CRP)
Amiloide A sérico (SAA)
Fibrinógeno
Proteína fijadora de manosa
Componentes del complemento
IL-6, TNF-α
Leucocitosis (↑ leucocitos)
Médula ósea (↑ CSF por las células del estroma y los macrófagos)

IL-1, IL-6 y TNF-α, que los macrófagos activados en el sitio de la inflamación producen, tienen importancia particular para mediar los efectos de fase aguda. LIF = factor inhibidor de la leucemia; OSM = oncostatina M.

ENFOQUE CLÍNICO

Deficiencia de adhesión leucocítica (LAD) en seres humanos y bovinos

El sistema inmunitario recurre a la inflamación para reunir los componentes de una reacción eficaz y concentrar estos recursos en el sitio infectado. La inflamación es un proceso complejo que se caracteriza por vasodilatación, aumento de la permeabilidad vascular, exudación de proteínas plasmáticas y reclutamiento de células inflamatorias. Los quimioatrayentes son elementos clave que hacen que los leucocitos lleguen a los sitios de inflamación. Incluyen quimiocinas como IL-8, proteína quimioatrayente de monocitos 1 (MCP-1), proteína inflamatoria de macrófagos 1 (MIP-1) y fragmentos de péptidos, como C5a, que se generan durante la fijación del complemento.

Los quimioatrayentes dan señales a los leucocitos circulantes para que se adhieran con firmeza a la superficie vascular y, mediante interacciones adhesivas para la tracción, estas células se abren paso entre las células endoteliales y logran entrar en el tejido circundante. Una vez dentro, son guiadas por gradientes de quimioatrayentes hacia los sitios de la reacción inflamatoria y se convierten en participantes de ese proceso. Los participantes clave en las interacciones adhesivas que son básicos para los fenómenos de adhesión y extravasación son moléculas de integrina heterodiméricas situadas en las superficies de los leucocitos migrantes. Existen diversas integrinas, entre ellas LFA-1 (compuesta por CD11a y CD18), Mac-1, llamada también CR3 (componentes: CD11b y CD18), y p150/95 o CR4 (componentes: CD11c y CD18). Cuando los leucocitos encuentran la quimiocina apropiada o algún otro quimioatrayente, su complemento de moléculas de integrina de la membrana experimenta un cambio de configuración que los transforma desde el estado ligeramente adhesivo hasta el de gran adhesión.

En 1979, *Lancet,* revista médica británica, publicó un artículo denominado "Delayed Separation of the Umbilical Cord, Widespread Infections and Defective Neutrophil Mobility", el primero de una serie de informes en los que se describen casos de pacientes afectados por una enfermedad autosómica recesiva rara en la cual la primera indicación suele ser onfalitis, un fenómeno consistente en tumefacción y enrojecimiento alrededor del sitio de implantación del cordón umbilical. Aunque no más susceptibles a las infecciones víricas que los testigos normales, los niños afectados por este trastorno sufren infecciones bacterianas recurrentes y a menudo crónicas, y los sitios en los que cabría esperar que hubiera pus están más bien libres de éste. Esta observación sobresale de manera particular porque los pacientes no experimentan deficiencia de granulocitos; de hecho, suelen tener cifras muy elevadas de estas células en la circulación. Las investigaciones inmunológicas detalladas de estos pacientes demostraron que sus concentraciones de Ig se encontraban dentro de los límites normales y que las funciones de las células B, T y NK eran casi normales. Sin embargo, el examen de la migración de los leucocitos en respuesta a la lesión tisular reveló la causa básica de la enfermedad.

Un método para valorar la migración de los leucocitos consiste en raspar con suavidad la piel de una pequeña zona del brazo; a continuación se toman muestras de las poblaciones de células que se desplazan hacia la zona erosionada captando algunas de ellas en un cubreobjetos de vidrio aplicado contra la piel sometida a la abrasión. Se colocan de manera sucesiva cubreobjetos de vidrio que se someten a incubación y se sacan de la incubadora después de varias horas. En general cada cubreobjetos se deja aplicado contra la piel durante 2 h y el procedimiento se repite cuatro veces durante un período de 8 h. El examen de los cubreobjetos bajo el microscopio revela si se adhieren leucocitos a ellos. En los individuos normales la reacción del sistema inmunitario a la lesión tisular consiste en liberar leucocitos en la zona lesionada, por lo que estas células se encuentran en los cubreobjetos. Sin embargo, en los pacientes que aquí se describen los cubreobjetos fueron en gran medida negativos a estas células. El examen de los leucocitos de estos pacientes reveló ausencia de CD18, componente esencial de diversas integrinas. Un elemento clave en la migración de los leucocitos es la adhesión celular mediada por integrinas, y estos pacientes experimentan incapacidad de sus leucocitos de efectuar migración dependiente de adhesión hacia los sitios inflamados. De aquí que este síndrome se denomine deficiencia de adhesión leucocítica.

Las infecciones bacterianas en estos pacientes pueden tratarse con antibióticos, pero recurren. Más aún, puesto que cepas de muchas bacterias patógenas son resistentes a los antibióticos, los pacientes con LAD deben vivir bajo la espada microbiana de Damocles, sin saber jamás el momento en que se romperá el hilo salvador de su vida constituido por los antibióticos. Sin embargo, se contará con una estrategia curativa si se logra encontrar un donador adecuado de médula ósea (casi siempre un pariente cercano). El sistema hematopoyético del paciente de LAD se destruye, quizá mediante tratamiento con productos químicos citotóxicos, y luego se efectúa el trasplante de médula ósea. Si este procedimiento logra buenos resultados proveerá al paciente leucocitos que tienen concentraciones normales de integrina funcional y que muestran todas las capacidades migratorias.

Esta enfermedad no se limita al ser humano. En bovinos ocurre una versión muy semejante del trastorno, llamada deficiencia (o enfermedad) de adhesión leucocítica de los bovinos (BLAD). La causa del problema en estos animales es idéntica a la que produce la LAD en el ser humano: falta de una subunidad de integrina funcional. Lo que es diferente en algunos rebaños productores de leche es la incidencia de la enfermedad; aunque rara en seres humanos, puede presentarse con frecuencias de gran importancia económica en el ganado bovino. Esto se debe al alto grado de endogamia que existe en las poblaciones de vacas lecheras. Por lo general estos rebaños se forman a partir de la inseminación artificial con semen de unos cuantos toros. Como consecuencia de esta práctica, en el decenio de 1980 fue posible rastrear casi uno de cada 20 toros del ganado lechero hasta un solo semental de raza Holstein que resultó heterocigoto para la BLAD. Esta frecuencia tan elevada del rasgo recesivo en la población engendrada incrementó en grado impresionante la frecuencia de la enfermedad en los rebaños lecheros. Durante los primeros años del decenio de 1990 la incidencia del gen BLAD en algunos países era hasta de 10% en diversos rebaños lecheros. El gen para el factor CD18 bovino se clonó y ello permitió diseñar una prueba basada en la reacción en cadena de la polimerasa para identificar las formas aberrantes de este gen. En la actualidad es posible investigar de manera sistemática a los sementales y los animales receptores para detectar el alelo BLAD. Como resultado, los toros portadores de este gen se identifican y eliminan de la población reproductora. Esto ha reducido enormemente la frecuencia de nuevos casos de BLAD así como la frecuencia global del alelo BLAD en los hatos lecheros.

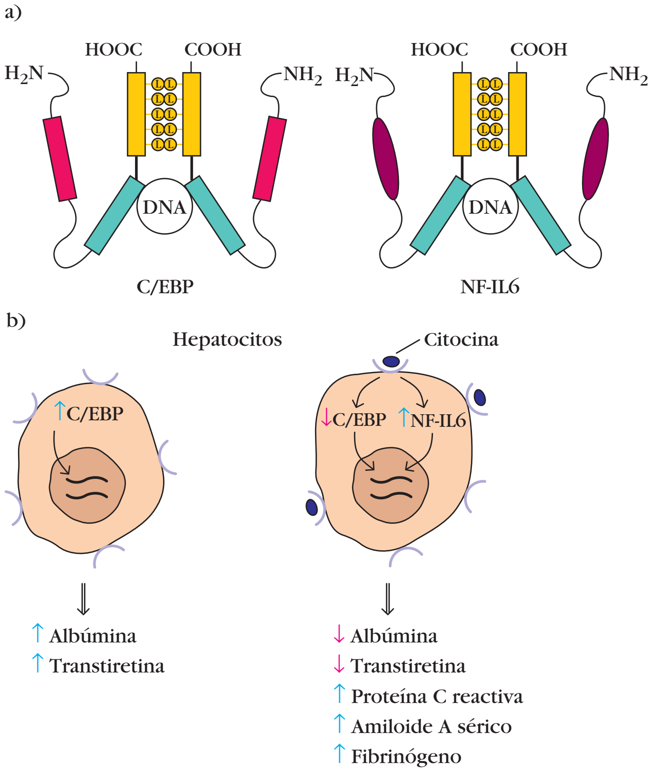


FIGURA 13-15 Comparación de la estructura y la función de C/EBP y NF-IL6. a) Ambos factores de transcripción son proteínas diméricas que contienen un dominio de cremallera de leucina (anaranjado claro) y un dominio básico de unión a DNA (azul). b) El C/EBP se expresa de manera constitutiva en los hepatocitos y promueve la transcripción de los genes de albúmina y transtiretina. Durante la reacción inflamatoria, la fijación de IL-1, IL-6, TNF-α, LIF u OSM a los receptores en los hepatocitos induce la producción de NF-IL6, que promueve la transcripción de los genes que codifican diversas proteínas de fase aguda. De manera concurrente las concentraciones de C/EBP disminuyen y en consecuencia las concentraciones de albúmina y transtiretina también lo hacen.

receptor C3b, pueden fagocitar después con facilidad los agentes patógenos cubiertos por esta opsonina.

Muchos efectos generales de la fase aguda se deben a la acción combinada de IL-1, TNF-α e IL-6 (fig. 13-14). Cada una de estas citocinas actúa sobre el hipotálamo para inducir una reacción febril. Doce a 24 h después del inicio de la reacción inflamatoria de fase aguda, las concentraciones incrementadas de IL-1, TNF-α e IL-6 (así como de factor inhibidor de la leucemia [LIF] y oncostatina M [OSM]) inducen la producción de proteínas de fase aguda por los hepatocitos. El TNF-α actúa también sobre las células endoteliales vasculares y los macrófagos para promover la secreción de los factores estimulantes de colonias (M-CSF, G-CSF y GM-CSF). Estos CSF estimulan la hematopoyesis y por tanto causan aumentos transitorios de la producción de leucocitos necesarios para combatir la infección.

La redundancia en la capacidad de por lo menos cinco citocinas (TNF-α, IL-1, IL-6, LIF y OSM) de inducir la producción de proteínas de fase aguda por el hígado es resultado de la inducción de un factor de transcripción común a todas ellas, NF-IL6, después que cada una de estas citocinas interactúa con su receptor. La determinación de la secuencia de aminoácidos del compuesto NF-IL6 reveló que éste tiene un alto grado de identidad de secuencia con el C/EBP, factor de transcripción específico del hígado (fig. 13-15a). Tanto NF-IL6 como C/EBP contienen un dominio del tipo de cremallera de leucina y un dominio de unión a DNA básico, y ambas proteínas fijan la misma secuencia de nucleótidos en el promotor o el intensificador de los genes que codifican varias proteínas hepáticas. Los hepatocitos expresan de manera constitutiva la proteína C/EBP, que estimula la producción de albúmina y transtiretina. Conforme la reacción inflamatoria se desarrolla y las citocinas interactúan con sus receptores respectivos sobre los hepatocitos, la expresión de NF-IL6 aumenta y la de C/EBP disminuye (fig. 13-15b). La relación inversa entre estos dos factores de transcripción explica el que durante la reacción inflamatoria las concentraciones séricas de proteínas, como albúmina y transtiretina, disminuyan, en tanto que las de proteínas de fase aguda se incrementan.

Se desarrolla inflamación crónica cuando el antígeno persiste

Algunos microorganismos son capaces de evadir la depuración por el sistema inmunitario, por ejemplo porque poseen componentes de la pared celular que les permiten resistir la fagocitosis. Con frecuencia estos microorganismos inducen una reacción inflamatoria crónica que da por resultado lesión tisular grave. Asimismo ocurre inflamación crónica en diversas enfermedades autoinmunitarias en las que los autoantígenos activan de manera sostenida las células T. Por último, la inflamación crónica contribuye también a la lesión tisular y la emaciación que acompañan a muchos tipos de cáncer.

La acumulación y la activación de macrófagos constituyen la piedra angular de la inflamación crónica. Las citocinas liberadas por macrófagos activados de manera crónica estimulan la proliferación de fibroblastos y la producción de colágena. Un tipo de tejido cicatrizal se desarrolla en los sitios de inflamación crónica mediante un proceso denominado **fibrosis**, una respuesta de cicatrización de las heridas que puede interferir en el funcionamiento tisular normal. Es posible que la inflamación crónica origine la formación de **granuloma**, una masa de tipo tumoral que consiste en una zona central de macrófagos activados rodeada por linfocitos también activados. A menudo el centro del granuloma contiene células gigantes multinucleadas formadas por la fusión de macrófagos activados. Por lo general estas células gigantes están rodeadas por grandes macrófagos modificados que parecen células epiteliales y que por ello se denominan células epitelioides.

Funciones de IFN-γ y TNF-α en la inflamación crónica

Dos citocinas en particular, IFN-γ y TNF-α, desempeñan un papel central en el desarrollo de la inflamación crónica. Las células T_H1, NK y T_C liberan IFN-γ, en tanto que los macrófagos activados secretan TNF-α.

Los miembros de la familia de glucoproteínas del interferón (IFN-α e IFN-β) se liberan desde células infectadas por virus y confieren protección antivírica a las células vecinas. La manera exacta en que el interferón se produce depende del tipo de célula

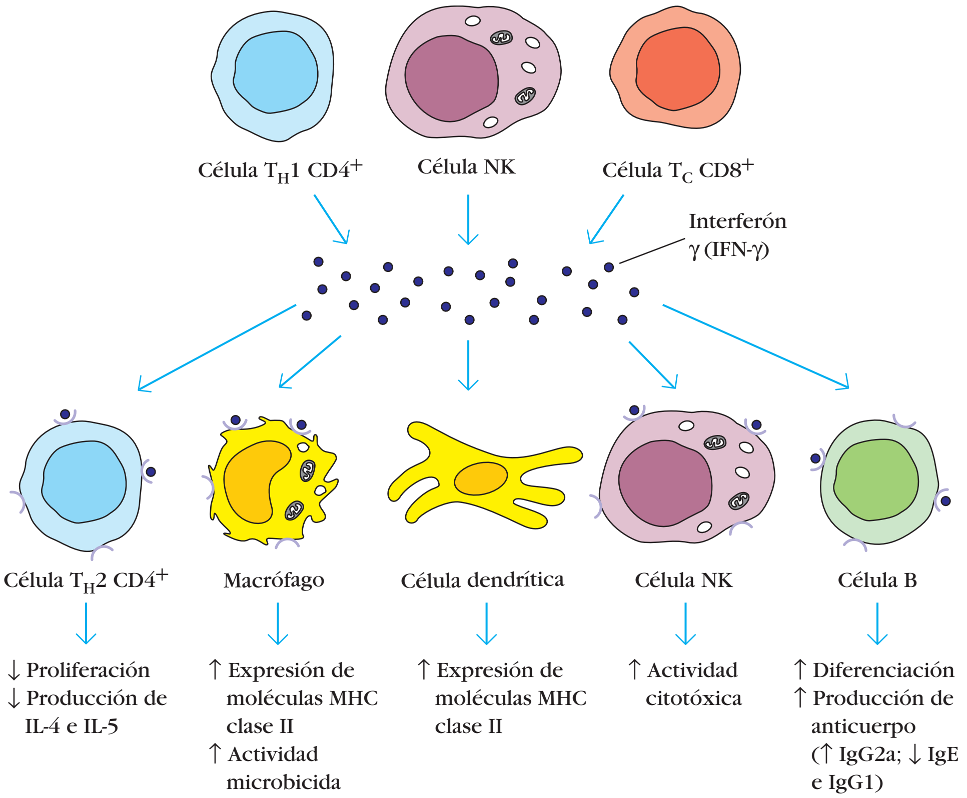


FIGURA 13-16 Resumen de la actividad pleiotrópica del interferón γ (IFN-γ). La activación de los macrófagos inducida por el IFN-γ tiene un papel de importancia crítica en la inflamación crónica. Células T$_H$1, NK y T$_C$ secretan esta citocina, que actúa sobre otros numerosos tipos de células. *[Adaptada de Research News, 1993,* Science ***259****:1693.]*

infectada. Los leucocitos producen IFN-α; el IFN-β lo elaboran sobre todo los fibroblastos y por este motivo con frecuencia se le denomina interferón de fibroblastos. Sólo las células T y NK producen IFN-γ. Sin embargo, el IFN-γ tiene diversas actividades pleiotrópicas que lo distinguen de IFN-α e IFN-β, y contribuyen a la reacción inflamatoria (fig. 13-16). Uno de los efectos más impresionantes del IFN-γ es su capacidad de activar macrófagos. En su estado activado, los macrófagos muestran aumento de la expresión de moléculas MHC clase II, mayor producción de citocinas e incremento de la actividad microbicida, lo cual los hace más eficaces en la presentación de antígeno y la muerte de los patógenos intracelulares. No obstante, en una reacción inflamatoria crónica los grandes números de macrófagos activados liberan diversas enzimas hidrolíticas e intermediarios reactivos de oxígeno y de nitrógeno, que causan gran parte del daño a los tejidos circundantes.

El TNF-α es una de las principales citocinas que los macrófagos activados secretan. El cirujano William Coley observó por primera vez la actividad de esta citocina a finales del siglo XIX y principios del XX. Se percató de que los tumores se volvían necróticos cuando los pacientes de cáncer desarrollaban ciertas infecciones bacterianas. Con la esperanza de ofrecer una cura contra el cáncer, Coley empezó a inyectar a sus pacientes los sobrenadantes derivados de diversos cultivos bacterianos. Aunque estos sobrenadantes de los cultivos, llamados "toxinas de Coley", indujeron necrosis hemorrágica en los tumores, también produjeron numerosos efectos adversos, lo que los hizo inadecuados para el tratamiento del cáncer. Decenios después se demostró que el componente activo de la toxina de Coley era un lipopolisacárido (endotoxina), componente de la pared celular bacteriana. Esta endotoxina no induce por sí misma necrosis tumoral, sino más bien hace que los macrófagos elaboren TNF-α. Esta citocina tiene un efecto citotóxico directo sobre ciertas células tumorales, pero no sobre las células normales (fig. 13-17a). Sin embargo, los intentos inmunoterapéuticos con el empleo de TNF-α para tratar el cáncer son desalentadores.

Diversas líneas de evidencia indican que el TNF-α contribuye también a una parte importante de la emaciación tisular característica de la inflamación crónica. Por ejemplo, los ratones portadores de un transgén del TNF-α experimentan emaciación extrema (fig. 13-17b). Los estudios de A. Cerami y colaboradores mostraron que los conejos infectados con tripanosomas perdían la mitad de su masa corporal en los dos meses siguientes al principio de la infección. Estos investigadores descubrieron después que la causa de la consunción profunda de estos animales era un factor derivado de los macrófagos, que denominaron factor caquetina. La clonación de los genes para el TNF-α y la caquetina reveló que se trataba de la misma proteína.

La activación de los macrófagos por el IFN-α promueve un aumento de la transcripción del gen para TNF-α e incrementa la estabilidad del mRNA del TNF-α. Ambos efectos causan aumento de la producción del TNF-α. Este último actúa de manera sinérgica con el IFN-γ para iniciar una reacción inflamatoria crónica. Ambas citocinas juntas promueven aumentos mucho más grandes de ICAM-1, selectina E y moléculas MHC de la clase I que cualesquiera de ellas por separado. Este incremento

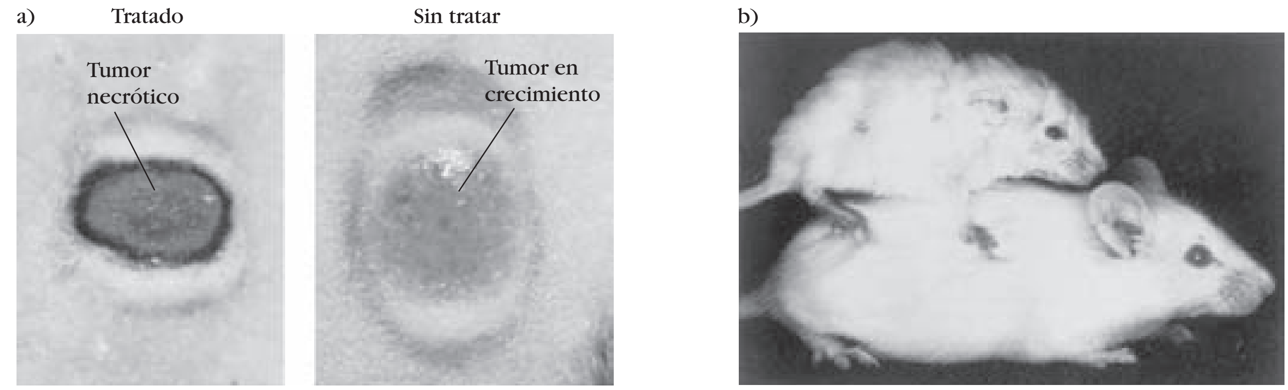


FIGURA 13-17 Actividades biológicas del TNF-α. a) Un tumor canceroso en un ratón al que se inyectó endotoxina (*izquierda*) sufre necrosis hemorrágica, a diferencia del tumor del ratón no tratado (*derecha*). La endotoxina induce la producción de TNF-α, que a su vez actúa para destruir el tumor. b) Un ratón transgénico (*arriba*) que porta un transgén TNF-α se torna anoréxico y gravemente emaciado. Abajo se presenta un ratón normal. *[Parte a adaptada de L. J. Old, 1988,* Scientific American ***258****:59; parte b de B. Beutler, 1993,* Hospital Practice *(April 15):45.]*

de la cantidad de moléculas de adhesión intercelular facilita el reclutamiento de grandes números de células en la reacción inflamatoria crónica.

En enfermedades inflamatorias crónicas se producen estructuras tipo HEV

Estudios recientes sugieren que regiones de células endoteliales hinchadas que semejan HEV aparecen a lo largo de los vasos en los tejidos extralinfoides que son sitios de infección crónica. Estas regiones similares a HEV, que al parecer son sitios de extravasación de linfocitos hacia el tejido inflamado, expresan diversas mucinas (p. ej., GlyCAM-1, MadCAM-1 y CD34) que a menudo se manifiestan sobre los HEV normales. Diversas citocinas —en especial IFN-γ y TNF-α— que se relacionan con la inflamación crónica pueden desempeñar un papel en la inducción de regiones similares a HEV a lo largo de la vasculatura.

CUADRO 13-4 Enfermedades inflamatorias crónicas relacionadas con vasculatura tipo HEV

Enfermedad	Órgano afectado	Endotelio denso	CAM tipo mucina en el endotelio*
Enfermedad de Crohn	Intestino	+	+
Diabetes mellitus	Páncreas	+	+
Enfermedad de Graves	Tiroides	+	+
Tiroiditis de Hashimoto	Tiroides	+	+
Artritis reumatoide	Sinovio	+	+
Colitis ulcerosa	Intestino	+	+

*Incluyen GlyCAM-1, MAdCAM-1 y CD34.

FUENTE: Adaptado de J. P. Girard y T. A. Springer, 1995, *Immunol. Today* **16:**449.

Se observan regiones del tipo del HEV en diversas enfermedades inflamatorias crónicas del ser humano, entre otras artritis reumatoide, enfermedad de Crohn, colitis ulcerosa, enfermedad de Graves, tiroiditis de Hashimoto y diabetes mellitus (cuadro 13-4). El desarrollo de vasos sanguíneos con HEV podría facilitar la entrada de grandes cantidades de leucocitos en el sitio, lo que contribuiría a la inflamación crónica. Estas observaciones sugieren que un enfoque eficaz para tratar las enfermedades inflamatorias crónicas puede ser el intento de controlar el desarrollo de estas regiones similares a HEV.

Agentes antiinflamatorios

Aunque el desarrollo de una reacción inflamatoria eficaz puede desempeñar una función de primer orden en las defensas del cuerpo, la reacción resulta dañina en ocasiones. Alergias, enfermedades autoinmunitarias, infecciones microbianas, trasplantes y quemaduras pueden iniciar una reacción inflamatoria crónica. Se dispone de diversas modalidades terapéuticas para reducir las reacciones inflamatorias prolongadas y por tanto las complicaciones que las acompañan.

Los tratamientos con anticuerpos reducen la extravasación de leucocitos

Como la extravasación de leucocitos es una parte integral de la reacción inflamatoria, un enfoque para disminuir la inflamación consiste en impedir este proceso. En teoría, una forma de reducir la extravasación de leucocitos es bloquear con anticuerpos la actividad de diversas moléculas de adhesión. Por ejemplo, en modelos animales se emplean anticuerpos contra la integrina LFA-1 para reducir la acumulación de neutrófilos en el tejido inflamatorio. También se utilizan anticuerpos contra la ICAM-1, con algunos buenos resultados, para prevenir la necrosis tisular que acompaña a las quemaduras y para disminuir la probabilidad de rechazo de injertos renales en modelos animales. Los resultados con anticuerpos específicos contra estas adhesinas fueron tan alentadores, que en estudios clínicos con pacientes receptores de trasplantes de riñón se recurrió a una combinación de éstos (antiICAM-1 y antiLFA-1). Tuvo que usarse esta combinación de las dos antiadhesinas porque el fracaso del bloqueo del LFA-1 o de la ICAM-1 conduce a rechazo. En ensayos clínicos se ha demostrado una clara mejoría de los pacientes con esclerosis múltiple recurrente, enfermedad de Crohn y artritis reumatoide cuando se tratan mediante anticuerpos que bloquean la subunidad integrina $\alpha 4$ de VLA-4 (CD49d), y la psoriasis grave puede moderarse cuando se trata con anticuerpos que bloquean la subunidad integrina αL de LFA-1 (CD11a). Sin embargo, las funciones de estas integrinas en el sistema inmunitario se extienden más allá de la extravasación de leucocitos, y se han planteado interrogantes acerca de la relación entre riesgo y beneficio cuando se bloquean sus actividades. La unión de VLA-4 (CD49d/CD29) por alguno de estos anticuerpos da por resultado una reacción tipo T_H1, que no sería un suceso favorable en una enfermedad ya dominada por células tipo T_H1. En otro ensayo, tres pacientes que recibían anticuerpos anti-$\alpha 4$ contra esclerosis múltiple o enfermedad de Crohn desarrollaron leucoencefalopatía vírica, debido tal vez a que el descenso de la migración de células inmunitarias a sitios del sistema nervioso permitió la propagación del virus. Antes de que el bloqueo de moléculas de adhesión pueda usarse más ampliamente, debe adquirirse una mejor comprensión de los efectos secundarios relacionados con la interferencia en la actividad de las moléculas de adhesión.

Los corticosteroides son fármacos antiinflamatorios potentes

Entre los corticosteroides, que son derivados del colesterol, se incluyen prednisona, prednisolona y metilprednisolona. Estos poderosos agentes antiinflamatorios ejercen diversos efectos cuyo resultado es la reducción del número y la actividad de las células del sistema inmunitario. Se emplean con regularidad en el tratamiento antiinflamatorio.

El tratamiento con corticosteroides causa un descenso del número de linfocitos circulantes como resultado de lisis de los linfocitos (linfólisis) inducida por esteroides o alteraciones de los patrones de linfocitos en la circulación. Algunas especies de animales (p. ej., criceto o hámster, ratón, rata y conejo) son particularmente sensibles a la linfólisis inducida por corticosteroides. En estos animales el tratamiento con corticosteroides a posologías de apenas 10^{-7} M produce linfólisis generalizada de tal magnitud que el peso del timo se reduce 90%; también el bazo y los ganglios linfáticos se enjutan de manera evidente. Al parecer los timocitos inmaduros de estas especies muestran sensibilidad particular a la destrucción mediada por corticosteroides. En roedores los corticosteroides inducen muerte celular programada de los timocitos inmaduros, en tanto que los maduros son resistentes a esta actividad. Dos horas después de la incubación in vitro con corticosteroides, los timocitos inmaduros empiezan a mostrar la morfología distintiva de la apoptosis y 90% de su cromatina se degrada hasta formar la escalera nucleosómica característica dentro de las 24 h que siguen al tratamiento. Las etapas que participan en la inducción de la apoptosis por corticosteroides aún no se identifican. Los corticosteroides no inducen apoptosis en seres humanos, cobayos y macacos, sino más bien afectan los patrones linfocíticos de la circulación con decremento del peso del timo y reducción notable del número de linfocitos circulantes.

Como otras hormonas esteroides, los corticosteroides son lipófilos y por tanto pueden cruzar la membrana plasmática y fijarse a receptores en el citosol. Los complejos receptor-hormona resultantes se transportan hacia el núcleo, donde se fijan a secuencias de DNA reguladoras específicas, que ejercen esta función mediante incremento o decremento de la transcripción. Está demostrado que los corticosteroides inducen aumento de la transcripción del inhibidor de NF-κB (I-κB). La fijación de este inhibidor al NF-κB en el citosol impide su transposición hacia el núcleo y en consecuencia previene que NF-κB active diversos genes, inclusive los que participan en la activación de las células T y la producción de citocinas.

Los corticosteroides también reducen la capacidad fagocítica y destructiva de macrófagos y neutrófilos, y este efecto puede contribuir a su acción antiinflamatoria. Asimismo disminuyen la quimiotaxis, de modo que menos células inflamatorias son atraídas hacia el sitio de activación de la célula T_H. La expresión de moléculas de MHC clase II y la producción de IL-1 por los macrófagos se reducen de manera impresionante en presencia de corticosteroides; cabría esperar que estas reducciones produjeran las disminuciones correspondientes en la activación de la célula T_H. Por último, los corticosteroides estabilizan las membranas lisosómicas de los leucocitos participantes, por lo que concentraciones disminuidas de enzimas lisosómicas se liberan en el sitio de la inflamación.

Los NSAID combaten el dolor y la inflamación

Desde los tiempos de Hipócrates se empleaban extractos de corteza de sauce para aliviar el dolor. El ingrediente activo de estos extractos, salicilato, que se encuentra en la aspirina, es sólo uno de los muchos fármacos antiinflamatorios no esteroides (NSAID). Los NSAID son las medicaciones que se emplean con más frecuencia para tratar el dolor y la inflamación. En clínica se demostró que tienen eficacia para tratar muchas reacciones inflamatorias agudas y crónicas. El mecanismo principal por el que estos fármacos ejercen sus efectos antiinflamatorios es la inhibición de la vía de la ciclooxigenasa que produce prostaglandinas y tromboxanos a partir de ácido araquidónico. El descenso de la producción de prostaglandina limita el aumento de la permeabilidad vascular y la quimiotaxis de los neutrófilos en la reacción inflamatoria. Como se ilustra en la figura 13-18, la vía de la ciclooxigenasa es mediada por dos enzimas: ciclooxigenasa 1 y ciclooxigenasa 2 (Cox-1 y Cox-2).

Aunque los NSAID como aspirina, paracetamol, ibuprofeno, naproxeno y otros se prescriben de manera sistemática para el tratamiento de problemas tan diversos como artritis, esguinces, traumatismos tisulares y dorsalgia, los efectos gastrointestinales adversos como malestar y dolor abdominales y, en los casos más graves, hemorragia o perforación gástrica o de la parte alta del conducto gastrointestinal, limitan la duración de su empleo. La investigación del mecanismo de acción de los NSAID brinda una base a los efectos beneficiosos y dañinos de muchos de estos fármacos. Algunos estudios muestran que, aunque la mayor parte de los NSAID inhiben tanto la Cox-1 como la Cox-2, la inhibición de la segunda es la causante de los efectos antiinflamatorios de estas medicaciones. La inhibición de la Cox-1 por estos agentes produce lesión del conducto gastrointestinal y

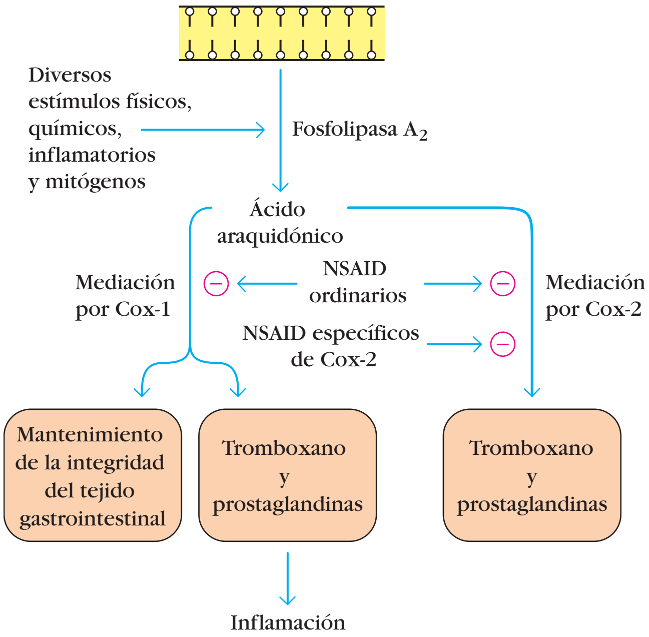

Diversos estímulos físicos, químicos, inflamatorios y mitógenos
Fosfolipasa A_2
Ácido araquidónico
Mediación por Cox-1
NSAID ordinarios
Mediación por Cox-2
NSAID específicos de Cox-2
Mantenimiento de la integridad del tejido gastrointestinal
Tromboxano y prostaglandinas
Tromboxano y prostaglandinas
Inflamación

FIGURA 13-18 Inhibición de las ciclooxigenasas 1 y 2 por los NSAID. Diversos agentes desencadenan la liberación de ácido araquidónico desde la membrana celular por acción de la fosfolipasa A_2. La acción subsecuente de la Cox-1 y la Cox-2 inicia la conversión de ácido araquidónico en una variedad de mediadores lípidos de la inflamación y de otros numerosos procesos. Varios NSAID inhiben ambas vías enzimáticas, pero los que tienen más especificidad por la rama Cox-2 producen efectos antiinflamatorios con menos efectos adversos. *[Adaptada de G. A. FitzGerald y C. N. Patrono, 2001,* New England Journal of Medicine ***345****:433.]*

carece de efectos antiinflamatorios benéficos importantes. Esta observación condujo a diseñar y desarrollar una nueva generación de NSAID que inhiben de manera específica la actividad de Cox-2 pero tienen poco efecto sobre la de Cox-1. La figura 13-18 ilustra la acción de estos fármacos con función antiinflamatoria altamente específica.

Si bien en un principio estos nuevos fármacos fueron creados para pacientes en riesgo de sufrir efectos secundarios gastrointestinales, su uso se difundió mucho más ampliamente. De manera ulterior, los datos clínicos de pacientes que usan los nuevos inhibidores específicos para Cox-2 han mostrado un incremento inaceptable de los efectos secundarios cardiovasculares, incluidos ataques cardíacos y accidente cerebrovascular. El inhibidor de Cox-2 rofecoxib dirigido a los pacientes propensos a efectos secundarios gastrointestinales, fue retirado del mercado de manera voluntaria por Merck en 2004 debido a la preocupación acerca de una mayor frecuencia de problemas cardiovasculares. En la actualidad, los inhibidores específicos para Cox-2 se recomiendan sólo como agentes de segunda o tercera línea.

RESUMEN

- Los linfocitos experimentan recirculación constante entre sangre, linfa, órganos linfoides y tejidos extralinfoides terciarios, lo que aumenta las posibilidades de que el pequeño número de linfocitos específicos para un antígeno determinado (cerca de 1 en 10^5 células) lo encuentren en realidad.
- La migración de los leucocitos al tejido inflamado o a los órganos linfoides requiere interacción entre las moléculas de adhesión celular (CAM) sobre el endotelio vascular y las que se encuentran sobre las células circulantes.
- La mayor parte de las CAM pertenece a una de cuatro familias de proteínas: selectinas, proteínas tipo mucina, integrinas o superfamilia de las Ig. Las selectinas y las CAM del tipo de la mucina interactúan entre sí, y los miembros de cada familia se expresan tanto sobre los leucocitos como sobre las células endoteliales. Las integrinas, que se expresan sobre los leucocitos, interactúan con las CAM de la superfamilia de las Ig, que se expresan sobre las células endoteliales.
- La extravasación tanto de neutrófilos como de linfocitos ocurre en cuatro etapas: rodamiento, activación, paro y adhesión, y migración transendotelial. Por lo general los neutrófilos son los primeros tipos de células que pasan de la sangre circulante a los sitios en los que ocurre inflamación.
- A diferencia de los neutrófilos, diversas poblaciones de linfocitos muestran extravasación diferencial hacia los distintos tejidos. Los receptores de direccionamiento situados sobre los linfocitos interactúan con moléculas de adhesión específicas de tejidos, llamadas adresinas vasculares, que se encuentran en endotelios venulares altos (HEV) en los órganos linfoides y sobre el endotelio de los tejidos extralinfoides terciarios.
- Los linfocitos nuevos se dirigen hacia órganos linfoides secundarios extravasándose a través de los HEV, en tanto que los linfocitos efectores se dirigen de manera selectiva hacia el endotelio vascular inflamado.
- La inflamación es una reacción fisiológica a diversos estímulos, como lesión e infección tisulares. La reacción inflamatoria aguda se caracteriza por efectos tanto locales como sistémicos. La reacción localizada se inicia cuando el daño tisular y endotelial induce la formación de mediadores enzimáticos plasmáticos causantes de vasodilatación y aumento de la permeabilidad vascular.
- Diversos tipos de mediadores intervienen en la reacción inflamatoria. Las quimiocinas actúan como moléculas quimioatrayentes y activadoras durante la extravasación de los leucocitos. Los mediadores enzimáticos plasmáticos incluyen bradicinina y fibrinopéptidos, que incrementan la permeabilidad vascular; la plasmina es una enzima proteolítica que degrada los coágulos de fibrina en productos quimiotácticos y activa el complemento; por último, diversos productos del complemento actúan como anafilatoxinas, opsoninas y moléculas quimiotácticas para neutrófilos y monocitos. Los mediadores inflamatorios lípidos comprenden tromboxanos, prostaglandinas, leucotrienos y factor activador de plaquetas. Tres citocinas, IL-1, IL-6 y TNF-α, median muchos de los aspectos locales y sistémicos de la reacción inflamatoria aguda.
- La activación de los macrófagos tisulares y la desgranulación de los mastocitos conducen a la liberación de numerosos mediadores inflamatorios, algunos de ellos inductores de la reacción de fase aguda, que abarca fiebre, leucocitosis y producción de corticosteroides y proteínas de fase aguda.

- Alergias, enfermedades autoinmunitarias, infecciones microbianas, trasplantes y quemaduras pueden acompañarse de una reacción inflamatoria crónica. Los tratamientos que más a menudo se utilizan para el dolor y la inflamación se basan en fármacos como los corticosteroides y diversos antiinflamatorios no esteroides (NSAID).

Bibliografía

Butcher, E., and L. J. Picker. 1996. Lymphocyte homing and homeostasis. *Science* **272:**60.

Cyster, J. G. 2005. Chemokines, sphingosine-1-phosphate, and cell migration in secondary lymphoid organs. *Annual Review of Immunology* **23:**127.

FitzGerald, G. A., and C. Patrono. 2002. The coxibs, selective inhibitors of cyclooxygenase-2. *New England Journal of Medicine* **345:**433.

Gabay, C., and I. Kushner. 1999. Acute-phase proteins and other systemic responses to inflammation. *New England Journal of Medicine* **340:**448.

González-Amaro, R., M. Mittelbrunn, and F. Sánchez-Madrid. 2005. Therapeutic anti-integrin (α4 and αL) monoclonal antibodies: two-edged swords? *Immunology* **116:**289.

Imhof, B. A., and M. Aurrand-Lions. 2004. Adhesion mechanisms regulating the migration of monocytes. *Nature Reviews Immunology* **4:**432.

Kim, C. H. 2005. The greater chemotactic network for lymphocyte trafficking: chemokines and beyond. *Current Opinion in Hematology* **12:**298.

Kuijpers, T. W., et al. 1997. Leukocyte adhesion deficiency type 1 (LAD-1)/variant: a novel immunodeficiency syndrome characterized by dysfunctional beta2 integrins. *Journal of Clinical Investigation* **100:**1725.

Kunkel, E. J., and E. C. Butcher. 2002. Chemokines and the tissue-specific migration of lymphocytes. *Immunity* **16:**1.

Pribila, J. T., A. C. Quale, K. L. Mueller, and Y. Shimizu. 2004. Integrins and T cell-mediated immunity. *Annual Review of Immunology* **22:**157.

Rosen, S. D. 2004. Ligands for L-selectin: homing, inflammation, and beyond. *Annual Review of Immunology* **22:**129.

Shuster, D. E., et al. 1992. Identification and prevalence of a genetic defect that causes leukocyte adhesion deficiency in Holstein cattle. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.* **89:**9225.

Springer, T. A. 1994. Traffic signals for lymphocyte recirculation and leukocyte emigration: the multistep paradigm. *Cell* **76:**301.

Steel, D. M., and A. S. Whitehead. 1994. The major acute phase reactants: C-reactive protein, serum amyloid P component and serum amyloid A protein. *Immunology Today* **15:**81.

Stein, J. V., and C. Nombela-Arrieta. 2005. Chemokine control of lymphocyte trafficking: a general review. *Immunology* **116:**1.

Sitios útiles de la red

http://cytokine.rndsystems.com

La Cytokine Mini-Reviews Section de R&D Systems contiene revisiones amplias, detalladas y bien ilustradas de muchas quimiocinas y sus receptores.

http://www.ncbi.nlm.nih.gov:80/Omim/

Online Mendelian Inheritance in Man es un catálogo de los genes humanos y los trastornos genéticos. Contiene imágenes y referencias de muchas enfermedades, entre ellas la deficiencia de adhesión leucocítica (LAD).

Preguntas de estudio

PREGUNTA DE ENFOQUE CLÍNICO ¿Por qué un defecto de la molécula CD18 causa aumento de la vulnerabilidad a la infección bacteriana? Describa, con toda la precisión que pueda, la biología de la migración celular.

1. Indique si cada una de las afirmaciones que siguen es verdadera o falsa. Si piensa que es falsa, explique el motivo.
   a. Las quimiocinas son quimioatrayentes para los linfocitos, pero no para otros leucocitos.
   b. Las integrinas que contienen β2 (CD18) se expresan tanto sobre los leucocitos como sobre las células endoteliales.
   c. La extravasación de leucocitos comprende interacciones múltiples entre las moléculas de adhesión celular.
   d. La mayor parte de los órganos linfoides secundarios contiene endotelios venulares altos (HEV).
   e. Las CAM del tipo de la mucina interactúan con las selectinas.
   f. La reacción inflamatoria aguda sólo abarca efectos localizados en la región de la lesión o la infección tisulares.
   g. La MAdCAM-1 es una molécula de adhesión endotelial que se fija a la selectina L y a diversas integrinas.
   h. La formación de granuloma es un síntoma frecuente de la inflamación local.
2. Diversos mediadores inflamatorios promueven la expresión de las ICAM sobre gran variedad de tejidos. ¿Qué efecto podría tener esta inducción sobre la localización de las células inmunitarias?
3. La extravasación de neutrófilos y linfocitos ocurre por mecanismos similares en general, aunque algunas diferencias establecen la distinción entre ambos procesos.
   a. Enumere en orden las cuatro etapas básicas de la extravasación de leucocitos.
   b. ¿En qué sitios es más probable que los neutrófilos se extravasen? ¿Por qué?
   c. Diversas subpoblaciones de linfocitos emigran de manera preferencial hacia tejidos diferentes, proceso denominado direccionamiento (o tráfico). Señale las funciones de los tres tipos de moléculas que permiten el tráfico de linfocitos.
4. ¿Cuáles son las tres citocinas secretadas por los macrófagos activados que tienen un papel de primera importancia en la mediación de los efectos localizados y sistémicos que acompañan a la reacción inflamatoria aguda?
5. Una reacción inflamatoria eficaz requiere diferenciación y proliferación de diversos leucocitos no linfoides. Explique la manera en que la lesión tisular o la infección local inducen la hematopoyesis en la médula ósea.
6. Para cada par de moléculas que se lista a continuación, indique si dichas moléculas interactúan durante la primera, la segunda, la tercera o la cuarta etapas de la extravasación de los neutrófilos hacia un sitio inflamado. Utilice la letra N para indicar moléculas que no interactúan entre sí.

a. _______ Quimiocina y selectina L
b. _______ Selectina R y CAM tipo mucina
c. _______ IL-8 y selectina E
d. _______ CAM de la superfamilia de las Ig e integrina
e. _______ ICAM y quimiocina
f. _______ Quimiocina y receptor acoplado a proteína G
g. _______ ICAM e integrina

7. Discuta los principales efectos de INF-γ y TNF-α durante la reacción inflamatoria crónica.

8. Cinco citocinas (IL-1, IL-6, TNF-α, LIF y OSM) inducen producción de proteína C reactiva y otras proteínas de fase aguda por los hepatocitos. Explique en pocas palabras las maneras en que estas diferentes citocinas pueden ejercer el mismo efecto sobre los hepatocitos.

9. Para cada término relacionado con la inflamación (a a h), seleccione las descripciones que se aplican a cada uno (1 a 11). Cada descripción puede emplearse una vez, más de una vez o ninguna vez; más de una descripción puede aplicarse a ciertos términos.

Términos
a. _______ Tejido extralinfoide terciario
b. _______ Selectinas P y E
c. _______ Prostaglandinas
d. _______ Fármacos antiinflamatorios no esteroides
e. _______ ICAM-1, 2 y 3
f. _______ MAdCAM
g. _______ Bradicinina
h. _______ Endotelio inflamado

Descripciones
1) Se fija(n) a mitades carbohidrato sialiladas
2) Inhibe(n) la vía de la ciclooxigenasa
3) Induce(n) la expresión del inhibidor NF-κB
4) Tiene(n) dominios tanto Ig como tipo mucina
5) Región del endotelio vascular que se encuentra en las vénulas poscapilares
6) Expresada(o)(s) por el endotelio inflamado
7) Tiene(n) vasculatura similar a HEV en la inflamación crónica
8) Pertenece(n) a la superfamilia de CAM de las Ig
9) Manifiesta(n) aumento de la expresión de las CAM
10) Aumenta(n) la permeabilidad vascular e induce(n) fiebre
11) Induce(n) fiebre

10. Prediga la o las consecuencias funcionales para el sistema inmunitario de ratones con desactivación génica que carecen de las siguientes moléculas de adhesión.

a. MAdCAM-1
b. Selectina L
c. Subunidad β2 de integrina

11. La quimiotaxis es un modo en que las células inmunitarias son dirigidas a zonas específicas. ¿Cuáles de los siguientes enunciados establecen concordancias correctas entre un quimioatrayente o citocina y un tipo celular?

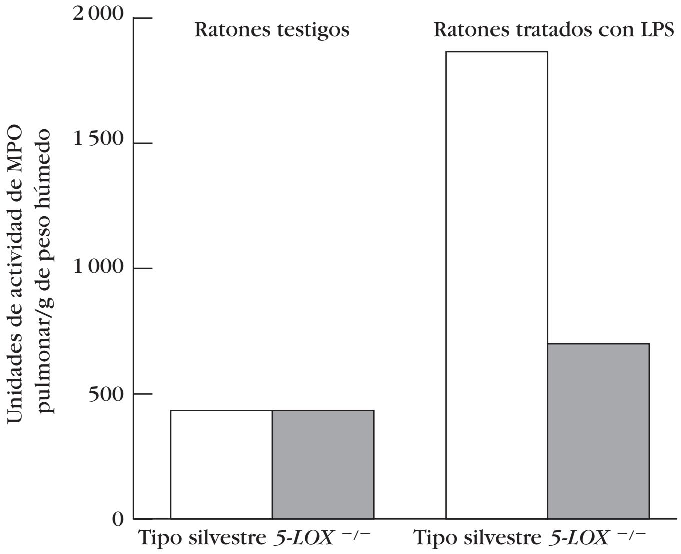
a. Las quimiocinas CXC, como la IL-8, atraen neutrófilos.
b. Las quimiocinas CC, como MIP-1α, atraen monocitos.
c. El componente C7 del complemento atrae eosinófilos.
d. El componente C5a del complemento atrae monocitos y neutrófilos.

12. La deficiencia de adhesión leucocítica tipo 1 se caracteriza por una mutación en una proteína necesaria para que los neutrófilos salgan del torrente sanguíneo (extravasación) y combatan infecciones. Los pacientes con este trastorno no suelen sobrevivir a la niñez porque son incapaces de combatir infecciones bacterianas. ¿Qué métodos pueden usarse para tratar esta enfermedad?

13. ¿Por qué los neutrófilos llegan a un sitio de infección antes que los monocitos, si ambos circulan en el torrente sanguíneo?

14. Los mecanismos de cicatrización del daño tisular, como el sistema de las cininas y el sistema de la coagulación, incrementan la reacción inflamatoria. Describa la interacción entre estos sistemas. ¿Cuál es el beneficio de tales interacciones?

ANALICE LOS DATOS Collin y colaboradores (2004, *J. Leukoc. Biol.* **76:**961) investigaron el efecto de la 5′-lipooxigenasa (5-LOX) en la inducción de falla orgánica sometiendo a ratones con desactivación génica (*5-LOX*$^{-/-}$) a tratamiento con lipopolisacárido. Conteste las siguientes preguntas con base en los datos de la figura adjunta y lo que ha aprendido en este libro.

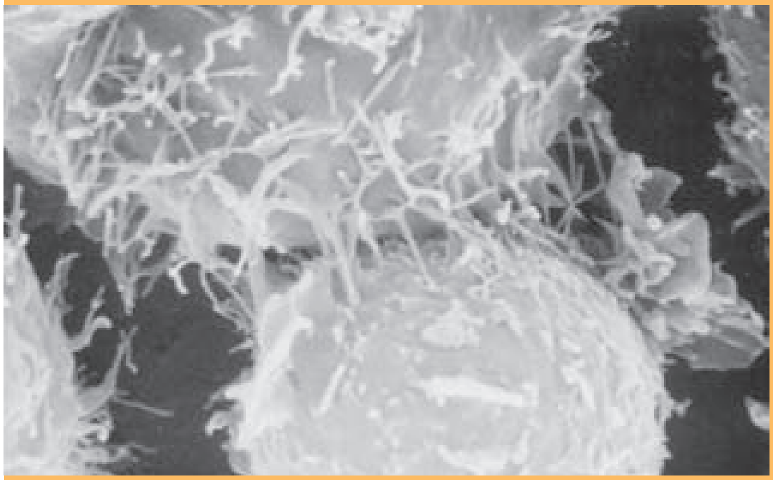


Actividad de mieloperoxidasa en el tejido pulmonar de ratones de tipo silvestre y ratones *5-LOX*$^{-/-}$ tratados con lipopolisacárido (LPS).

a. ¿Para qué tipo de infección usaron los investigadores como modelo el LPS?
b. La mieloperoxidasa es una enzima expresada por neutrófilos que se usa para investigar la presencia de éstos en tejidos. Los investigadores midieron la MPO para cuantificar el reclutamiento de células inflamatorias en los pulmones. ¿Aumenta o disminuye la inflamación con la 5′-lipooxigenasa? Explique su respuesta.
c. ¿Cuál factor quimiotáctico es más probable que haya sido afectado por la desactivación 5-LOX$^{-/-}$?
d. ¿Sugieren los datos de la figura que otros mecanismos de reclutamiento actuaron en este sistema?

capítulo 14

Reacciones citotóxicas mediadas por células



Un CTL grande ataca una célula tumoral pequeña. [Tomada de J. D. E. Young y Z. A. Cohn, 1988, Scientific American *258(1):38.]*

- Reacciones efectoras
- Propiedades generales de las células T efectoras
- Células T citotóxicas
- Células asesinas naturales
- Células NKT
- Citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo
- Valoración experimental de la citotoxicidad mediada por células

LAS RAMAS DEL SISTEMA INMUNITARIO, LAS MEDIADAS POR células y las humorales desempeñan diferentes acciones en la protección del hospedador. Los efectores de la rama humoral son anticuerpos secretados, moléculas muy específicas presentes en la superficie de células y los espacios extracelulares que pueden fijar y neutralizar antígenos. El dominio primario de la protección de anticuerpo se encuentra fuera de las células. Si los anticuerpos fueran los únicos agentes de la inmunidad, los patógenos los evadirían, formarían colonias en el ambiente intracelular y escaparían al sistema inmunitario. No sucede así. Una de las principales acciones de la inmunidad mediada por células es detectar y eliminar células que alojan patógenos intracelulares. La inmunidad mediada por células también puede reconocer y eliminar células, como las tumorales, que sufrieron modificaciones genéticas de tal manera que a menudo expresan antígenos que no son característicos de las células normales.

Las células específicas e inespecíficas de antígeno pueden contribuir a la reacción inmunitaria mediada por células. Las células específicas incluyen linfocitos T citotóxicos CD8$^+$ (células T$_C$ o CTL) y células T$_H$ CD4$^+$ que secretan citocina y median la hipersensibilidad tardía (DTH, del inglés *delayed-type hypersensitivity*). En el capítulo 15 se exponen las reacciones de DTH y el papel de las células T CD4$^+$ en su sincronización. Las células inespecíficas incluyen células NK y tipos de células no linfoides, como macrófagos, neutrófilos y eosinófilos. En fechas recientes la atención se ha centrado en un tipo no detectado antes con características de células T específicas de antígeno y de células NK inespecíficas; este híbrido se ha bautizado como célula NKT. Aunque queda mucho por aprender acerca de las células NKT, se considera que participan tanto en la inmunidad antibacteriana como en la antitumoral.

Las actividades de los componentes específico e inespecífico suelen depender de las concentraciones locales eficaces de varias citocinas. Las células T, células NK y macrófagos son las fuentes más importantes de las citocinas que organizan y sustentan la toxicidad mediada por células. La activación de las células para que realicen funciones de matanza requiere la cooperación de diferentes tipos celulares. Por último, aunque la inmunidad humoral y la mediada por células tienen muchas características distintivas, no son por completo independientes. Células como macrófagos, células NK, neutrófilos y eosinófilos pueden utilizar anticuerpos como receptores para reconocer células y destruirlas. Asimismo, los péptidos quimiotácticos que se generan por la activación del complemento en respuesta a complejos de antígeno y anticuerpo pueden contribuir a reunir los tipos de células que se requieren para una reacción mediada por células.

En capítulos anteriores se describieron varios aspectos de las respuestas efectoras humoral y mediada por células. En este capítulo se analizan los mecanismos efectores citotóxicos mediados por células T$_C$, las células NK, la citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo (ADCC) y la valoración experimental de la citotoxicidad.

Reacciones efectoras

La importancia de la inmunidad mediada por células resulta obvia cuando el sistema es defectuoso. Los niños con síndrome de DiGeorge, que nacen sin timo y en consecuencia carecen del componente de células T del sistema inmunitario mediado por células, son casi siempre capaces de afrontar infecciones de bacterias extracelulares, pero no pueden eliminar de manera eficaz patógenos intracelulares. Su falta de inmunidad mediada por células funcional tiene como resultado infecciones repetidas por virus, bacterias intracelulares y hongos. La gravedad de la inmunodeficiencia mediada por células en estos niños es tal que incluso los virus atenuados que se encuentran en una vacuna, capaces sólo de desarrollarse de manera limitada en personas normales, pueden originar infecciones que ponen en peligro la vida.

Las reacciones inmunitarias mediadas por células pueden dividirse en dos categorías principales, según sean las diferentes poblaciones efectoras que participan. Un grupo comprende células efectoras que ejercen actividad citotóxica directa. Estos efectores eliminan células extrañas y células propias alteradas y precipitan una reacción citotóxica que lisa su blanco. Las diversas células efectoras citotóxicas pueden agruparse en dos categorías generales: una comprende linfocitos T citotóxicos específicos de antígeno (CTL) y células inespecíficas, como las asesinas naturales (NK) y los macrófagos. Las células blanco a las que se dirigen estos efectores incluyen células alogénicas, malignas e infectadas por virus y células sometidas a estrés térmico o traumático. El otro grupo conforma una subpoblación de células T CD4$^+$ efectoras que median reacciones de hipersensibilidad de tipo tardío (cap. 15). En la sección siguiente se revisan las propiedades generales de las células T efectoras y la manera en que difieren de las células T vírgenes.

Propiedades generales de las células T efectoras

Los tres tipos de células T efectoras —CD4$^+$, células T$_H$1 y T$_H$2, y CTL CD8$^+$— tienen varias propiedades que los diferencian de las células T colaboradora virgen y citotóxica (cuadro 14-1). Las células efectoras se caracterizan en particular por sus necesidades de activación menos estrictas, mayor expresión de las moléculas de adhesión celular y producción de moléculas efectoras unidas a membrana y solubles.

CUADRO 14-1 Comparación entre células T vírgenes y efectoras

Propiedad	Células T vírgenes	Células T efectoras
Señal coestimuladora (interacción CD28-B7)	Necesaria para activación	No se requiere para activación
Isoforma CD45	CD45RA	CD45RO
Moléculas de adhesión celular (CD2 y LFA-1)	Baja	Alta
Patrones de tráfico	VEA* en tejido linfoide secundario	Tejidos linfoides terciarios; sitios inflamatorios

*VEA, vénulas con endotelios altos, sitios en vasos sanguíneos utilizados por linfocitos para la extravasación.

Las necesidades de activación de las células T son diferentes

Las células T en diversas etapas de diferenciación pueden reaccionar con distintas eficiencias a las señales mediadas por el receptor de célula T y, en consecuencia, tal vez requieran grados diferentes de un segundo grupo de señales coestimuladoras. Como se describe en el capítulo 10, la activación de células T vírgenes y su proliferación y diferenciación subsecuentes en células T efectoras requieren una señal primaria, proporcionada por la interacción del complejo TCR y CD4 o CD8 con un complejo de péptido extraño–molécula de MHC, y una señal coestimuladora, emitida por la interacción entre moléculas de membrana particulares en la célula T y la célula presentadora de antígeno. En contraste, las células efectoras que han entrado en contacto con antígenos y las células de memoria (en oposición a las células T vírgenes) son capaces de responder a señales mediadas por TCR sin ninguna coestimulación o muy poca.

El mecanismo que subyace a las diferentes necesidades de activación de las células T vírgenes y activadas representa un área de investigación constante, si bien se han hallado algunos indicios. Uno de ellos es que muchas poblaciones de células T vírgenes y efectoras expresan distintas isoformas de CD45, designadas CD45RA y CD45RO, que se producen por superposición alternativa del transcrito en RNA del gen CD45. Estas dos moléculas de membrana median la transducción de señales de TCR al catalizar la desfosforilación de un residuo en las tirosincinasas de proteína Lck y Fyn, activar estas cinasas y desencadenar los pasos subsecuentes en la activación de la célula T (figs. 10-10 y 10-11). Las células T efectoras expresan la isoforma CD45RO, que se une mucho mejor al complejo TCR y sus correceptores, CD4 y CD8, que la isoforma CD45RA, expresada por células T vírgenes. Las células T de memoria tienen ambas isoformas, pero predomina la CD45RO. Como resultado, las células T efectoras y de memoria son más sensibles a la activación por un complejo de péptido-MHC mediada por el receptor de célula T (TCR). Asimismo, poseen requerimientos menos rígidos de señales coestimuladoras y por tanto son capaces de reaccionar a complejos de péptido y MHC que se exhiben en células blanco o células presentadoras de antígeno que carecen de moléculas B7 coestimuladoras.

Las moléculas de adhesión celular facilitan las interacciones mediadas por el receptor de célula T (TCR)

CD2 y la integrina LFA-1 son moléculas de adhesión celular en las superficies de células T que se unen, respectivamente, a LFA-3 y moléculas de adhesión celular intracelulares (ICAM) en células presentadoras de antígeno y varias células blanco (fig. 9-13). Las concentraciones de LFA-1 y CD2 son dos a cuatro veces más altas en células T efectoras que en células T vírgenes y permiten que las primeras se unan con mayor efectividad a células presentadoras de antígeno y a diversas células blanco que expresan valores bajos de ICAM o LFA-3.

Como se comenta en el capítulo 9, la interacción inicial de una célula T efectora con una célula presentadora de antígeno o una célula blanco es débil y hace posible que el TCR explore la membrana para péptidos específicos presentados por moléculas de MHC propias. Si la célula efectora no reconoce un complejo de péptido y MHC, se separa de la APC o célula blanco.

CUADRO 14-2 Moléculas efectoras producidas por células T efectoras

Tipo de célula	Efectores solubles	Efectores unidos a la membrana
CTL	Citotoxinas (perforinas y granzimas), IFN-γ, TNF-β	Ligando Fas (FASL)
T_H1	IL-2, IL-3, TNF-β, IFN-γ, GM-CSF (altas)	Factor de necrosis tumoral β (TNF-β)
T_H2	IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, GM-CSF (bajas)	Ligando CD40

Sin embargo, el reconocimiento por el TCR de un complejo de péptido y MHC produce una señal que incrementa la afinidad de LFA-1 por ICAM en la membrana de la APC o la célula blanco, lo que prolonga la interacción entre las células. Por ejemplo, las células efectoras T_H1 permanecen unidas a macrófagos que exhiben complejos de péptido y MHC clase II; las células efectoras T_H2 continúan unidas a células B que exhiben complejos de péptido y MHC clase II; y las células CTL efectoras se unen con firmeza a células blanco infectadas por virus que exhiben complejos de péptido y MHC clase I.

Las células T efectoras expresan varias moléculas efectoras

Las células T efectoras expresan ciertas moléculas efectoras, tanto de membrana como solubles, que las células T vírgenes no expresan (cuadro 14-2). Las moléculas unidas a la membrana pertenecen a la familia del factor de necrosis tumoral (TNF) de proteínas de membrana e incluyen ligando Fas (FASL) en CTL $CD8^+$, TNF-β en células T_H1 y ligando CD40 (CD40L o CD154) en células T_H2. Cada una de las poblaciones de células T efectoras secreta asimismo diferentes grupos precisos de moléculas efectoras solubles. Los CTL secretan citotoxinas (perforinas y granzimas) y asimismo dos citocinas, IFN-γ y TNF-β. Como se describe en el capítulo 12, los subconjuntos T_H1 y T_H2 secretan en gran parte grupos de citocinas que no se superponen.

Cada una de estas moléculas, unidas a membrana y secretadas, tiene una acción importante en varias funciones efectoras de las células T. Por ejemplo, el ligando Fas, las perforinas y las granzimas median la destrucción de la célula blanco por el linfocito T citotóxico (CTL); el TNF-β unido a membrana, el INF-γ soluble y el GM-CSF promueven la activación de macrófagos por las células T_H1; por su parte, el ligando CD40 unido a la membrana e IL-4, IL-5 e IL-6 solubles tienen un papel en la activación de las células B por la célula T_H2.

Células T citotóxicas

Los linfocitos T citotóxicos, o CTL, se generan por la activación inmunitaria de células T citotóxicas (T_C). Estas células efectoras tienen capacidades líticas y son críticas en el reconocimiento y la eliminación de células propias alteradas (p. ej., células infectadas por virus y tumorales) y son células genéticamente distintas en las reacciones de rechazo de injertos. En general, los CTL son $CD8^+$ y en consecuencia se restringen a MHC clase I. Debido a que virtualmente todas las células nucleadas en el cuerpo expresan moléculas MHC clase I, los CTL pueden reconocer y eliminar casi cualquier célula del cuerpo que exhiba el antígeno específico reconocido por esa CTL en el contexto de una molécula MHC clase I.

La reacción inmunitaria mediada por el CTL puede dividirse en dos fases, que reflejan diferentes aspectos de la respuesta. En la primera fase, las células T_C vírgenes experimentan activación y diferenciación en CTL efectores funcionales. En la segunda fase, los CTL efectores reconocen complejos antígeno-MHC clase I en células blanco específicas, lo cual los lleva a destruir las células blanco.

Los linfocitos T citotóxicos efectores se generan a partir de precursores propios

Las células T_C vírgenes son incapaces de destruir células blanco y, por esta razón, se denominan precursores de CTL (CTL-P) a fin de indicar su estado funcional inmaduro. Sólo después de activarse un CTL-P se diferencia la célula en un CTL funcional con actividad citotóxica. El umbral para la activación de CTL a partir de CTL-P es alto comparado con el de otras células T efectoras y al parecer requiere al menos tres señales secuenciales (fig. 14-1):

- Una señal específica de antígeno transmitida por el complejo TCR cuando reconoce un complejo péptido-molécula MHC clase I en una APC “autorizada” (la *autorización* se explica más adelante).
- Una señal coestimuladora transmitida por la interacción CD28-B7 del CTL-P y la APC autorizada.
- Una señal inducida por la interacción de IL-2 con el receptor IL-2 de alta afinidad que tiene como resultado la proliferación y diferenciación del CTL-P activado por antígeno hacia CTL efector.

Es claro que la activación de un CTL-P se produce cuando reconoce antígeno en una APC presentado en el contexto de una molécula MHC clase I, pero se desconoce cuáles otros factores contribuyentes se requieren. Están surgiendo pruebas convincentes de que la APC debe adquirir primero la capacidad de activar CTL-P por interacciones previas en un proceso llamado *autorización* (fig. 14-1). La autorización puede ocurrir a través de la interacción entre la APC (más probablemente una célula dendrítica) y una célula T_H1 a través de antígeno procesado en el contexto de una molécula MHC clase II. Para la autorización también se requiere una interacción coestimulatoria entre CD40 en la célula dendrítica y CD40L en la célula T_H1. Esto fue demostrado por el hecho de que un anticuerpo anti-CD40 monoclonal tiene el mismo efecto en la célula T_H1 que el CD40L en situaciones experimentales en que se midió la activación de CTL-P por células dendríticas. La autorización también puede ocurrir en algunos casos a través de la interacción de un receptor tipo Toll (TLR) en una APC con un producto microbiano. No está definida del todo la función precisa de las células T_H1 en la generación de CTL a partir de CTL-P vírgenes, y es probable que una célula T_H1 y un CTL-P interactúen de manera directa. Sin embargo, IL-2 y coestimulación son importantes en la transformación de CTL-P vírgenes en células efectoras, y datos recientes sugieren que las células T_H1 son esenciales en la satisfacción de estos requisitos.

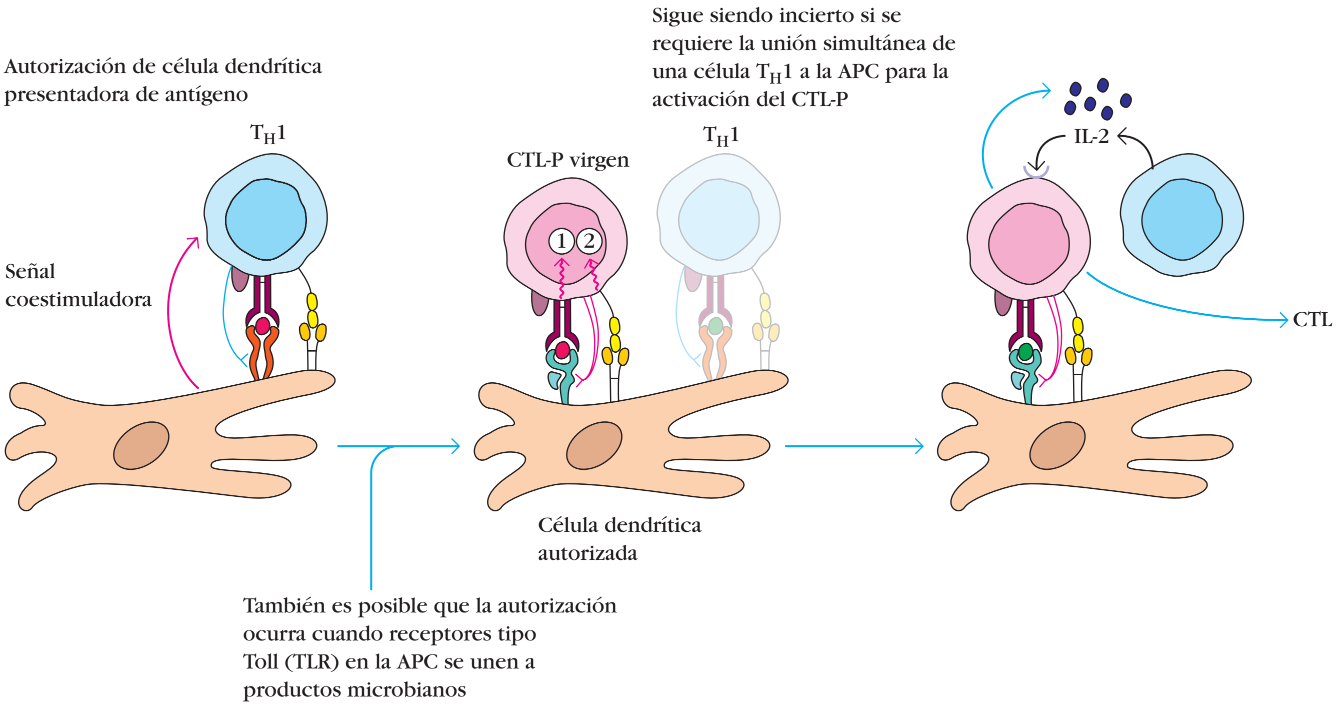

Autorización de célula dendrítica presentadora de antígeno
T_H1
Señal coestimuladora
Sigue siendo incierto si se requiere la unión simultánea de una célula T_H1 a la APC para la activación del CTL-P
CTL-P virgen
T_H1
1
2
Célula dendrítica autorizada
IL-2
CTL
También es posible que la autorización ocurra cuando receptores tipo Toll (TLR) en la APC se unen a productos microbianos

FIGURA 14-1 Generación de CTL efectores. La activación o autorización de una célula dendrítica para darle la capacidad de activar un CTL-P puede requerir la interacción previa o simultánea con una célula T_H1 $CD4^+$ vía un antígeno presentado por clase II y la coestimulación por CD40-CD40L. Por interacción con complejos antígeno-MHC clase I y moléculas coestimuladoras en una APC adecuadamente autorizada, los CTL-P comienzan a expresar receptores de IL-2 (IL-2R) y cantidades menores de IL-2. Los CTL-P se convierten entonces en CTL con la capacidad de destruir células blanco.

Una vez autorizada, la célula dendrítica interactúa con el CTL-P a través de antígeno presentado por clase I para activarse y convertirse en un CTL. Aún se desconoce si las interacciones entre la célula dendrítica y las dos células T distintas deben ser concurrentes, donde cada una interactúe de manera simultánea con antígenos presentados en la misma célula dendrítica, o si la célula dendrítica autorizada por la interacción con una célula T_H1 retiene su capacidad de activar CTL-P por algún tiempo luego de que la célula T_H1 se separa. Si esto último es cierto, entonces las células T_H1 específicas podrían moverse para autorizar otras células dendríticas, con lo que amplificarían la respuesta de activación. En la figura 14-1 se muestra la interacción de células T_H1 con una célula dendrítica, que entonces es autorizada y puede activar CTL-P para que se conviertan en CTL cuando interactúen con antígeno clase I en la célula dendrítica.

El requisito estricto de que tanto la célula T_H1 como la T_C reconozcan antígeno antes de que la segunda sea activada para convertirse en CTL constituye una salvaguarda contra la autorreactividad inapropiada de las células citotóxicas. Recuérdese que el fenómeno de presentación cruzada de antígeno (cap. 8), más probablemente confinado a células dendríticas, permite la presentación de antígenos exógenos tanto por moléculas MHC clase I como clase II. Esto podría permitir el reconocimiento simultáneo por células $CD8^+$ y $CD4^+$ del mismo antígeno presentado en el contexto de clase I y clase II en una célula dendrítica. Otra observación relevante es que las células dendríticas captan una variedad de virus —y pueden ser infectadas por ellos—, incluidos aquellos para los cuales no expresan receptores específicos. Esta cualidad hace a las células dendríticas un depósito potencial de antígenos víricos contra los cuales tanto CTL como células T_H1 pueden ser dirigidos, y permite la generación de CTL contra virus con patrones de infección estrictamente específicos de tejido que de otra manera no podrían encontrar CTL sino hasta que la infección está bien establecida.

Existen diferencias claramente discernibles en la célula T $CD8^+$ antes y después de la conversión de un CTL-P a CTL. Los CTL-P desactivados no expresan IL-2 ni receptor de IL-2, no proliferan, y no exhiben actividad citotóxica. La activación induce a un CTL-P a iniciar la expresión del receptor de IL-2 y en menor grado IL-2, la principal citocina necesaria para la proliferación y diferenciación de los CTL-P activados hacia CTL efectores. Los CTL-P de memoria, con menores requisitos de activación que las células vírgenes (fig. 14-2), requieren menos IL-2 para ser activados que los CTL-P vírgenes.

En general, sin embargo, la mayoría de los CTL-P activados necesita IL-2 adicional producida por células T_H1 para proliferar y diferenciarse en CTL efectores. En ratones con desactivación del gen que codifica IL-2 se demostró que la ausencia de ésta suprime la citotoxicidad mediada por CTL. El hecho de que el receptor de IL-2 no se exprese sino hasta después de que un CTL-P ha sido activado por antígeno más una molécula MHC clase I favorece la expansión clonal y la adquisición de citotoxicidad sólo por los CTL-P específicos de antígeno.

Después de la depuración de antígeno disminuye la concentración de IL-2 e induce a las células T_H1 y los CTL a sufrir muerte celular programada por apoptosis. De esta manera, se termina con rapidez la reacción inmunitaria, lo que reduce la posibilidad de daño inespecífico del tejido por la respuesta inflamatoria.

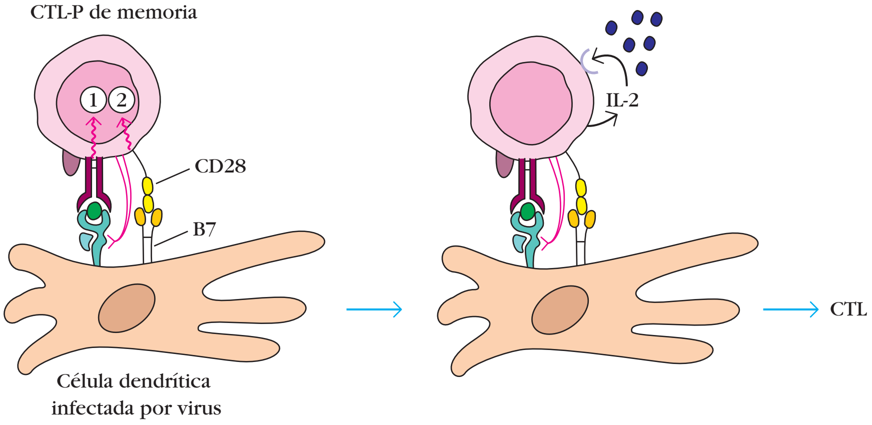


FIGURA 14-2 La proliferación de CTL-P de memoria tal vez no requiera ayuda de las células T_H1. Los CTL-P de memoria activados por antígeno secretan suficiente IL-2 para estimular su proliferación y diferenciación propias hacia CTL efectores. Es posible que tampoco necesiten la señal coestimuladora CD28-B7 para la activación.

Los linfocitos T citotóxicos CD8$^+$ pueden rastrearse con tecnología de tetrámeros MHC

Los tetrámeros MHC son complejos generados en el laboratorio con cuatro moléculas MHC clase I enlazadas a un péptido específico y unidas a una molécula fluorescente (fig. 14-3). Un complejo de tetrámero MHC-péptido determinado sólo se une a células T CD8$^+$ que tienen TCR específicos para el complejo particular péptido-MHC que caracteriza al tetrámero. Por consiguiente, cuando se añade un tetrámero específico a una población celular que contiene células T (p. ej., células de bazo o ganglio linfático) se marcan con fluorescencia los TCR específicos para el tetrámero. Mediante citometría de flujo es posible entonces determinar la proporción de células en una población que tienen TCR específicos para un antígeno particular contando el número de células con fluorescencia. Este método muy sensible permite detectar células T específicas de antígeno, incluso cuando su frecuencia en la población CD8$^+$ es tan baja como 0.1%.

Más aún, es posible medir de manera directa el incremento de células T CD8$^+$ específicas de antígeno en respuesta a la exposición a agentes patógenos como virus o antígenos vinculados con cáncer. En una aplicación afín, los investigadores infectaron ratones con virus de estomatitis vesicular (VSV) y examinaron de manera sistemática la distribución de células T CD8$^+$ específicas para un complejo de péptido y MHC derivado de VSV en la totalidad del cuerpo. Este estudio demostró que durante una infección aguda con VSV, la distribución de células CD8$^+$ específicas de VSV está lejos de ser uniforme (fig. 14-4); poblaciones grandes de células específicas de antígeno no se limitan al sistema linfoide, sino que también pueden encontrarse en el hígado y los riñones.

Los linfocitos T citotóxicos (CTL) destruyen células de dos maneras

La fase efectora de una reacción mediada por CTL incluye una cuidadosa secuencia sincronizada de fenómenos que se inicia con la unión de la célula blanco por la célula de ataque (fig. 14-5). Para identificar muchas de las moléculas de membrana y los fenómenos de membrana que intervienen en este proceso se utilizaron cultivos a largo plazo de clonas de CTL. Como se describe más adelante, los estudios con cepas de ratón que llevan mutaciones que afectan la capacidad de los CTL de inducir la muerte llevaron a identificar las moléculas responsables.

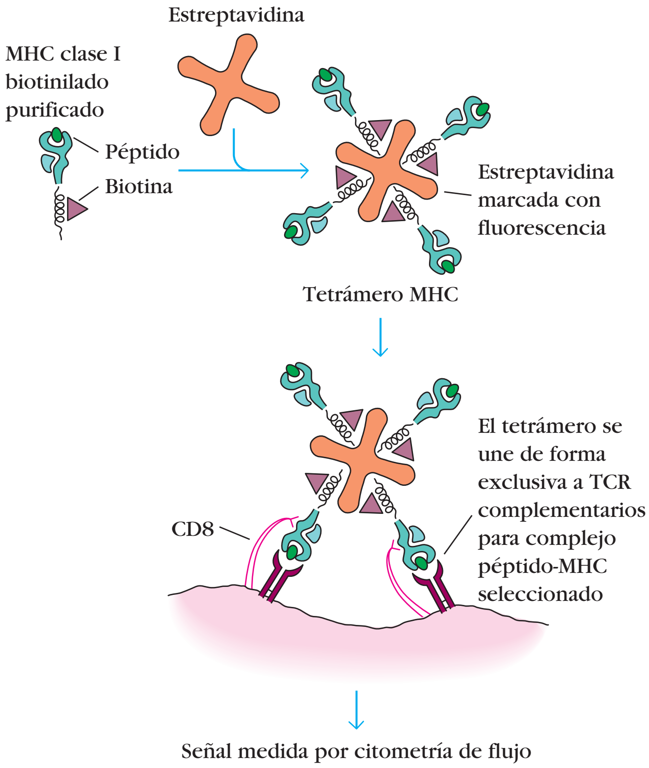


FIGURA 14-3 Tetrámeros MHC. Se conjuga una población homogénea de moléculas MHC clase I unidas a péptido (p. ej., HLA-A1 unida a un péptido derivado de VIH) con biotina y se mezcla con estreptavidina marcada con fluorescencia. Se unen cuatro complejos biotinilados de MHC con péptido a los sitios de unión de alta afinidad de estreptavidina para formar un tetrámero. La adición del tetrámero a una población de células T tiene como resultado la unión exclusiva del tetrámero fluorescente a las células T CD8$^+$ con TCR complementarios para los complejos de péptido y MHC del tetrámero. Esto produce el marcado de la subpoblación de células T que son específicas para el antígeno blanco y las torna detectables con facilidad mediante citometría de flujo. *[Adaptada en parte de P. Klenerman, V. Cerundolo y P. R. Dunbar, 2002,* Nature Reviews/Immunology ***2****:264.]*

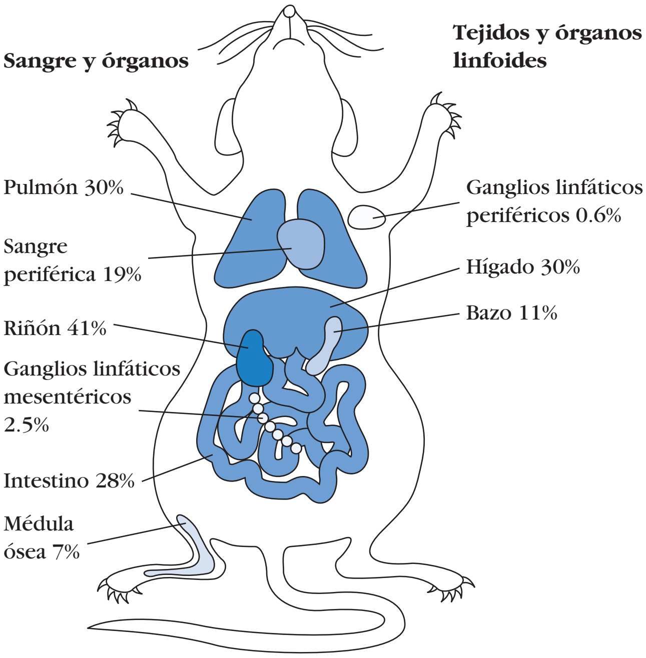

Sangre y órganos
Tejidos y órganos linfoides
Pulmón 30%
Sangre periférica 19%
Riñón 41%
Ganglios linfáticos mesentéricos 2.5%
Intestino 28%
Médula ósea 7%
Ganglios linfáticos periféricos 0.6%
Hígado 30%
Bazo 11%

FIGURA 14-4 Localización de poblaciones de células T CD8$^+$ específicas de antígeno in vivo. Se infectaron ratones con virus de estomatitis vesicular (VSV) y durante el curso de la etapa aguda de la infección se aislaron poblaciones celulares de los tejidos indicados en la figura y se incubaron con tetrámeros que contenían complejos VSV-péptido-MHC. El análisis con citometría de flujo permitió determinar el porcentaje de células T CD8$^+$ que eran específicas de VSV en cada una de las poblaciones examinadas. *[Adaptada de P. Klenerman, V. Cerundolo y P. R. Dunbar, 2002,* Nature Reviews/Immunology ***2****:269.]*

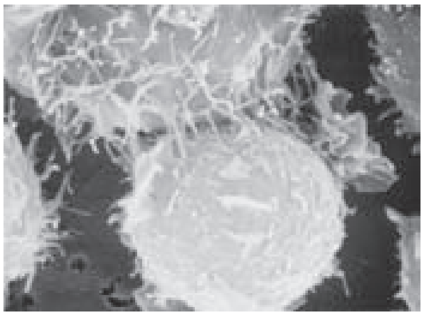


FIGURA 14-5 Micrografía electrónica de barrido del ataque de una célula tumoral por un linfocito T citotóxico (CTL). El CTL (arriba) está en contacto con una célula tumoral más pequeña. *[Tomada de J. D. E. Young y Z. A. Cohn, 1988,* Scientific American ***258****(1):38.]*

Los fenómenos primarios en la muerte mediada por CTL son la formación de un conjugado, el ataque de membrana, la disociación de CTL y la destrucción de la célula blanco (fig. 14-6). Cuando se incuban CTL específicos de antígeno con células blanco apropiadas, interactúan los dos tipos celulares y forman un conjugado. La formación de un conjugado de CTL y célula blanco va seguida en el transcurso de varios minutos de un paso dependiente de Ca^{2+}, que requiere energía, en el cual el CTL programa la muerte de la célula blanco. A continuación el CTL se disocia de la célula blanco y prosigue hasta unirse a otra célula blanco. En el transcurso de un período variable (hasta de unas cuantas horas) después de la disociación del CTL, la célula blanco muere por apoptosis.

El proceso comienza cuando el complejo de membrana TCR-CD3 en un CTL reconoce antígeno vinculado con moléculas MHC clase I en una célula blanco. Después de este reconocimiento específico de antígeno el receptor de integrina LFA-1 en la membrana del CTL se une a ICAM en la membrana de la célula blanco, y el resultado es la formación de un conju-

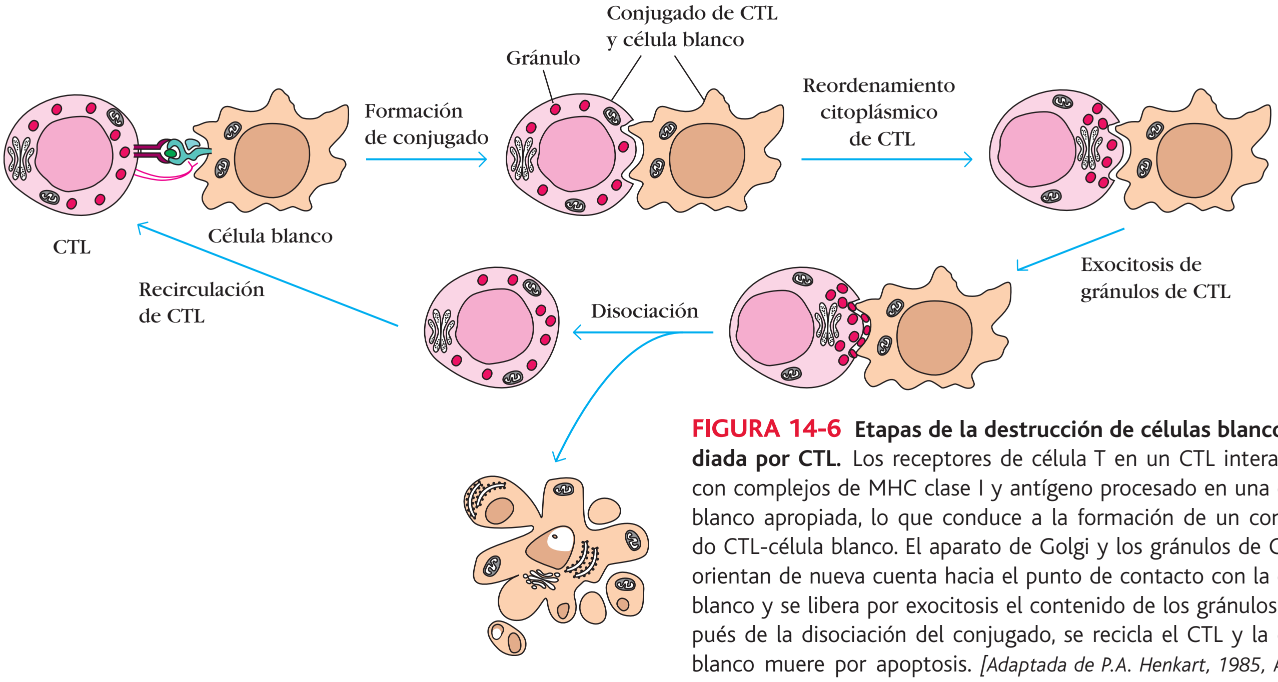

Conjugado de CTL y célula blanco
Gránulo
Formación de conjugado
Reordenamiento citoplásmico de CTL
CTL
Célula blanco
Recirculación de CTL
Exocitosis de gránulos de CTL
Disociación

FIGURA 14-6 Etapas de la destrucción de células blanco mediada por CTL. Los receptores de célula T en un CTL interactúan con complejos de MHC clase I y antígeno procesado en una célula blanco apropiada, lo que conduce a la formación de un conjugado CTL-célula blanco. El aparato de Golgi y los gránulos de CTL se orientan de nueva cuenta hacia el punto de contacto con la célula blanco y se libera por exocitosis el contenido de los gránulos. Después de la disociación del conjugado, se recicla el CTL y la célula blanco muere por apoptosis. *[Adaptada de P.A. Henkart, 1985,* Annual Review of Immunology ***3****:31.]*

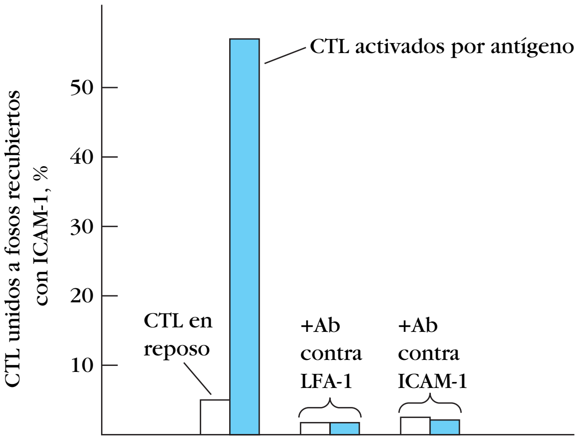


FIGURA 14-7 **Efecto de la activación por antígeno sobre la capacidad de los CTL de unirse a la molécula de adhesión celular intercelular ICAM-1.** Se incubaron primero CTL de ratón en reposo con anticuerpos anti-CD3. El enlace cruzado de moléculas CD3 en la membrana de los CTL por un anti-CD3 tiene el mismo efecto activador que la interacción con complejos de antígeno y MHC clase I en una célula blanco. Se valoró la adhesión al unir CTL radiomarcados a microfosos recubiertos con ICAM-1. La activación por antígeno incrementó la unión de CTL a ICAM-1 más de 10 veces. La presencia de exceso de anticuerpo monoclonal a LFA-1 o ICAM-1 en el microfoso suprimió la unión, lo que demostró que se requieren ambas moléculas para la adhesión. *[Basada en M. L. Dustin y T. A. Springer, 1989,* Nature ***341****:619.]*

gado. La activación de CTL mediada por antígeno convierte el LFA-1 de un estado de baja afinidad en otro de alta afinidad (fig. 14-7). Debido a este fenómeno, los CTL se adhieren sólo a células blanco apropiadas que muestran péptidos antigénicos vinculados con moléculas MHC clase I y forman conjugados. El LFA-1 persiste en el estado de alta afinidad sólo durante cinco a 10 min después de la activación mediada por antígeno, y luego vuelve al estado de baja afinidad. Este descenso de la afinidad de LFA-1 puede facilitar la disociación del CTL de la célula blanco.

La microscopia electrónica de clonas de CTL cultivadas revela la presencia de gránulos de almacenamiento intracelulares electrodensos. Se aislaron estos gránulos mediante fraccionamiento y se demostró que median el daño de la célula blanco por sí mismos. El análisis de su contenido mostró monómeros de 65 kDa de una proteína que forma poros llamada **perforina** y varias proteasas de serina denominadas **granzimas** (o **fragmentinas**). Los CTL-P carecen de gránulos citoplásmicos y perforina; cuando se activan, en ellos aparecen gránulos citoplásmicos que llevan monómeros de perforina recién expresados.

Inmediatamente después de la formación de un conjugado de CTL y célula blanco, el aparato de Golgi congrega y almacena de nueva cuenta gránulos reorientados dentro del citoplasma del CTL para concentrarlos cerca de la unión con la célula blanco (fig. 14-8). Las pruebas sugieren que a continuación se liberan monómeros de perforina y proteasas granzima de los gránulos por exocitosis hacia el espacio de unión entre las dos células. A medida que los monómeros de perforina entran en contacto con la membrana de la célula blanco, experimentan un cambio conformacional que expone un dominio anfipático que se inserta en la membrana de la célula blanco; luego se polimerizan los monómeros (en presencia de Ca^{2+}) para formar poros cilíndricos con diámetro interno de 5 a 20 nm (fig. 14-9a). En la membrana de la célula blanco se observa un gran número de poros de perforina en la región en que se formó el conjugado (fig. 14-9b). Como hecho interesante, la perforina muestra cierta homología de secuencia con el componente terminal C9 del sistema del complemento, y los poros en la membrana formados por la perforina son similares a los que se observan en la lisis mediada por complemento. La importancia de la perforina en la destrucción mediada por CTL se demuestra por el hecho de que los ratones con desactivación génica deficientes en perforina no son capaces de eliminar virus de la coriomeningitis linfocítica (LCMV), aunque desencadenan una gran reacción inmunitaria de $CD8^+$ al virus.

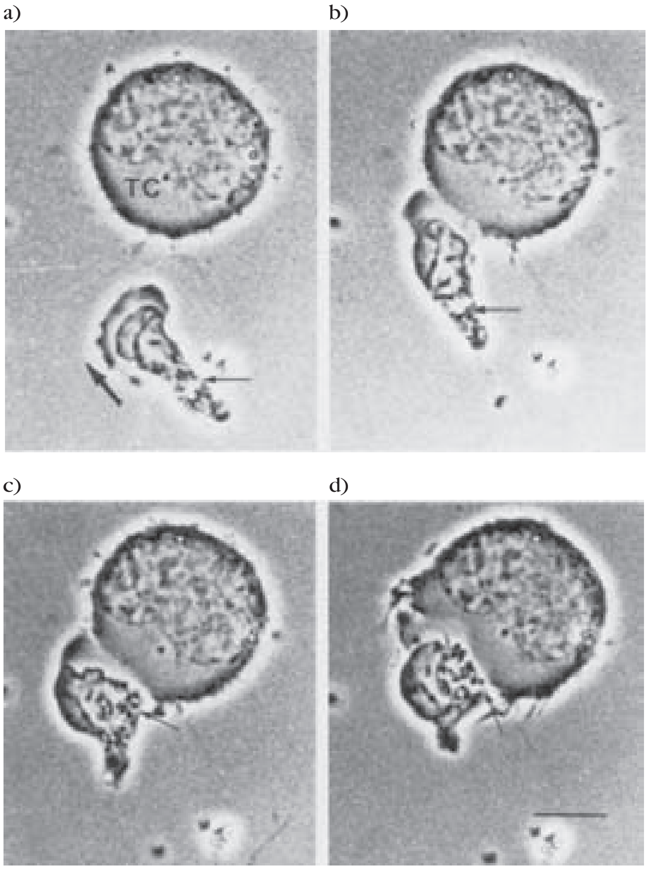


FIGURA 14-8 **Formación de un conjugado entre un CTL y una célula blanco y nueva orientación de los gránulos citoplásmicos de CTL registradas mediante cinematografía de lapso de tiempo.** a) Un CTL móvil de ratón (flecha delgada) se aproxima a una célula blanco apropiada (TC). La fecha gruesa indica la dirección del movimiento. b) Ocurre el contacto inicial del CTL y la célula blanco. c) En el transcurso de dos minutos tras el contacto inicial se ensanchó la región de contacto de membranas y se encuentra en curso el reordenamiento de gránulos citoplásmicos oscuros dentro del CTL (flecha delgada). d) Es evidente el movimiento adicional de gránulos oscuros hacia la célula blanco 10 min después del contacto inicial. *[Tomada de J. R. Yanelli et al., 1986,* Journal of Immunology ***136****:377.]*

La formación de poros en la membrana celular del blanco es una forma en que la perforina media la entrada de granzima; otra es la vía asistida por perforina. Muchas células blanco tienen una molécula que se conoce como receptor de 6-fosfato de manosa en su superficie, que también se une a granzima B. Los complejos de granzima B/receptor de 6-fosfato de manosa se

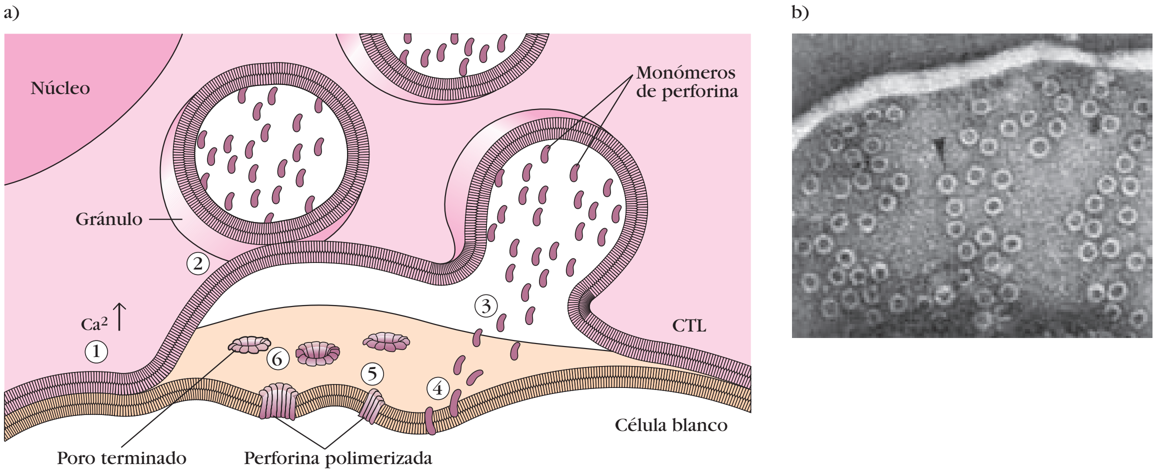


FIGURA 14-9 Formación de poro mediada por CTL en la membrana de la célula blanco. a) En este modelo, el aumento de Ca^{2+} intracelular que desencadena la interacción de CTL y la célula blanco (1) induce exocitosis, en la cual se fusionan los gránulos con la membrana de la célula CTL (2) y se libera perforina monomérica hacia el espacio pequeño entre las dos células (3). Los monómeros de la perforina liberada experimentan un cambio de conformación inducido por Ca^{2+} que les permite insertarse en las membranas de la célula blanco (4). En presencia de Ca^{2+} se polimerizan los monómeros dentro de la membrana (5) y forman poros cilíndricos (6). b) Micrografía electrónica de poros de perforina en la superficie de una célula blanco, eritrocito de conejo. *[Parte a adaptada de J. D. E. Young y Z. A. Cohn, 1988,* Scientific American ***258****(1):38; parte b de E. R. Podack y G. Dennert, 1983,* Nature ***301****:442.]*

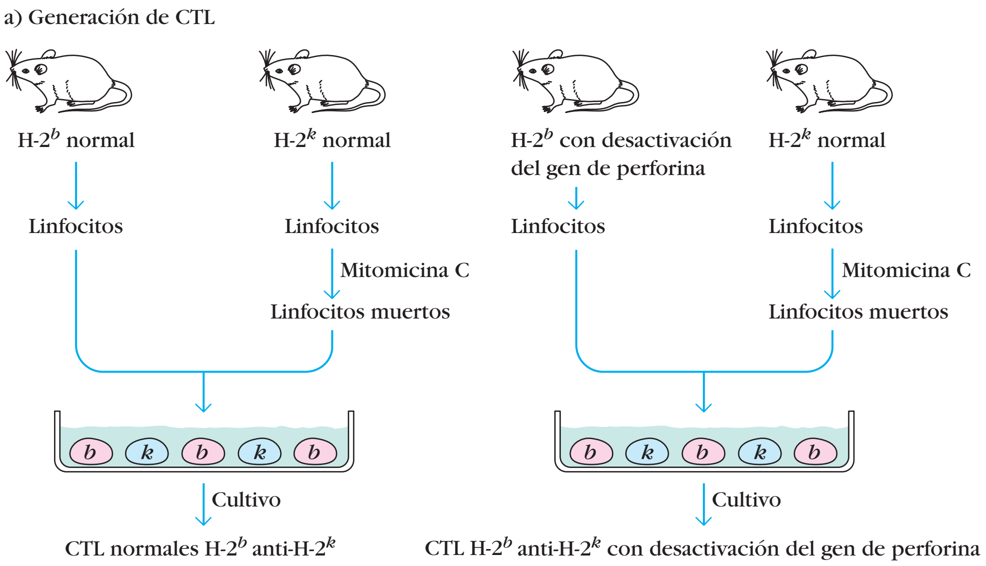
internalizan y aparecen dentro de vesículas. Entonces, la perforina internalizada al mismo tiempo forma poros que liberan la granzima B de la vesícula hacia el citoplasma de la célula blanco.

Una vez que la granzima B penetra en el citoplasma de la célula blanco, inicia una cascada de reacciones que tiene como resultado la fragmentación del DNA de la célula blanco en oligómeros de 200 pb; este tipo de fragmentación de DNA es característico de la apoptosis. Las granzimas, que son proteasas, no median de forma directa la fragmentación de DNA. Por el contrario, activan una vía apoptósica dentro de la célula blanco. Este proceso apoptósico no requiere mRNA ni síntesis de proteínas en CTL o la célula blanco. En el transcurso de cinco minutos tras el contacto con CTL, las células blanco comienzan a mostrar fragmentación de DNA. Como hecho interesante, se demostró asimismo que durante este proceso se fragmenta el DNA vírico dentro de células blanco infectadas. Esta observación prueba que la muerte mediada por CTL no sólo destruye células infectadas con virus sino que también puede destruir el DNA vírico en dichas células. Se ha sugerido que el inicio rápido de la fragmentación del DNA después del contacto con CTL puede evitar la continuación de la multiplicación y el ensamblaje vírico en el período anterior a la muerte de la célula blanco.

Se ha demostrado que algunas líneas de CTL potentes carecen de perforina y granzima. En estos casos, el Fas media la citotoxicidad. Como se describe en el capítulo 10, esta proteína transmembranal, que es un miembro de la familia del receptor de TNF, puede llevar una señal de muerte cuando la enlaza en forma cruzada su ligando natural, un miembro de la familia de necrosis tumoral llamado ligando de Fas o ligando Fas (fig. 10-19). El ligando Fas (FasL) se encuentra en la membrana de los CTL, y la interacción de FasL con Fas de la célula blanco desencadena apoptosis.

La información fundamental sobre el papel de la perforina y el sistema Fas-FasL en la citólisis mediada por CTL se obtuvo de experimentos con ratones mutantes. En estos estudios se utilizaron dos tipos de ratones mutantes, el ratón con desactivación del gen para perforina antes mencionado, y una cepa de ratones que se conoce como *lpr* (fig. 14-10). Los ratones homocigotos para la mutación *lpr* no expresan Fas, o lo expresan muy poco y, en consecuencia, las células de estos ratones no pueden ser destruidas por la interacción con el ligando Fas. Si se incuban linfocitos de ratones normales $H\text{-}2^b$ con células muertas de ratones $H\text{-}2^k$, se generan CTL anti-$H\text{-}2^k$. Estos CTL $H\text{-}2^b$ destruyen células blanco de ratones $H\text{-}2^k$ normales o animales $H\text{-}2^k$ que son homocigotos para la mutación *lpr*. La incubación de células $H\text{-}2^b$ de ratones con desactivación del gen para la perforina junto con células muertas de ratones $H\text{-}2^k$ dio por resultado CTL que destruyeron células blanco tipo silvestre, pero no indujeron lisis en células blanco de ratones $H\text{-}2^k$ homocigotos para la mutación *lpr*.

Tomados en conjunto, los resultados de éstos y otros estudios permitieron a los investigadores realizar la interpretación siguiente. Los CTL originados de ratones normales pueden destruir células blanco por un mecanismo mediado por perforina, un mecanismo que implica la unión de Fas de la célula blanco con ligando Fas que se exhibe en la membrana de los CTL o, en algunos casos, tal vez por una combinación de ambos mecanismos. Estos CTL pueden destruir células blanco que carecen de Fas en la membrana sólo mediante el mecanismo de perforina. Por otra parte, los CTL de ratones con desactivación del gen de la perforina sólo pueden destruir por el mecanismo Fas-FasL. En consecuencia, los CTL de ratones con la desactivación mencionada pueden destruir células blanco normales que portan Fas, pero no células *lpr*, que carecen de Fas. Estas investigaciones también concluyeron que toda la muerte celular mediada por CTL podía seguirse hasta la destrucción dependiente de perforina, destrucción mediada por Fas, o una combinación de ambas. No se reconoció otro mecanismo.



b) Interacción de CTL con blancos Fas$^+$ y Fas$^-$

	Células blanco	
CTL	Normal H-2^k	H-2^k mutante *lpr* (sin Fas)
H-2^b anti-H-2^k normales	Muertas	Muertas
H-2^b anti-H-2^k con desactivación del gen de perforina	Muertas	Sobreviven

FIGURA 14-10 Demostración experimental que indica que los CTL utilizan las vías Fas y de perforina. a) Generación de linfocitos T citotóxicos (CTL). Los linfocitos se obtuvieron de ratones H-2^b y haplotipos MHC H-2^k. Las células con haplotipo H-2^k se destruyeron por tratamiento con mitomicina C y se cultivaron en forma concurrente con células haplotipo H-2^b para estimular la generación de CTL H-2^k. Si los linfocitos H-2^b derivaran de ratones normales, originarían CTL con perforina y ligando Fas. Si se produjeran CTL mediante estimulación de linfocitos de ratones con desactivación del gen para perforina expresarían ligando Fas pero no perforina. b) Interacción de CTL con blancos Fas$^+$ y Fas$^-$. Los CTL H-2^b anti-H-2^k normales que expresan ligando Fas y perforina destruyen células blanco H-2^k normales y células mutantes H-2^k *lpr* que no expresan Fas. En contraste, los CTL H-2^b y anti-H-2^k de ratones con desactivación del gen para perforina destruyen células normales Fas$^+$ por inclusión de Fas con ligando Fas pero no son capaces de destruir las células *lpr*, que carecen de Fas.

Este experimento y otros demuestran que el inicio de la muerte apoptósica de células blanco mediada por CTL depende de dos mecanismos:

- Suministro direccional de proteínas citotóxicas (perforina y granzimas) que se liberan de los CTL y penetran en células blanco.
- Interacción del ligando Fas unido a la membrana de CTL con el receptor Fas en la superficie de células blanco.

Cualesquiera de estos fenómenos iniciadores activa una vía de señalización que culmina con la muerte de la célula blanco por apoptosis (fig. 14-11). Una característica de la muerte celular por apoptosis es la participación de la familia **caspasa** de proteasas de cisteína, que escinde después un residuo ácido aspártico. El nombre *caspasa* incorpora todos estos elementos (*c*isteína, *asp*artato, prote*asa*). En condiciones normales, las caspasas se encuentran en las células como proenzimas inactivas —procaspasas— que requieren escisión proteolítica para convertirse en las formas activas. Se han encontrado hasta la fecha más de una docena de diferentes caspasas, cada una de ellas con especificidad propia. La escisión de una procaspasa produce una caspasa iniciadora activa, que escinde otras procaspasas y activa en consecuencia su acción proteolítica. El resultado final es el desensamblaje sistemático y ordenado de la célula, que es la característica distintiva de la apoptosis.

Los CTL utilizan granzimas y ligando Fas para iniciar las cascadas de caspasa en sus blancos. Las granzimas introducidas en la célula blanco por los CTL median fenómenos proteolíticos que activan una caspasa iniciadora. De igual forma, la inclusión de Fas en una célula blanco por el ligando de Fas en el CTL origina la activación de una caspasa iniciadora en la célula blanco. Fas se vincula con una proteína conocida como FADD (del inglés *F*as-*a*ssociated protein with *d*eath *d*omain, proteína relacionada con Fas con dominio de muerte), que a su vez se relaciona con una forma procaspasa de caspasa 8. Durante el enlace cruzado de Fas la procaspasa 8 se convierte en caspasa 8 e inicia una cascada de caspasa apoptósica. El resultado final de las vías de perforina/granzima y la mediada por Fas es la activación de vías de muerte latentes que se encuentran en la célula blanco. Como señaló de manera apropiada un inmunólogo, los CTL no destruyen células blanco, sino que más bien las persuaden para que se suiciden.

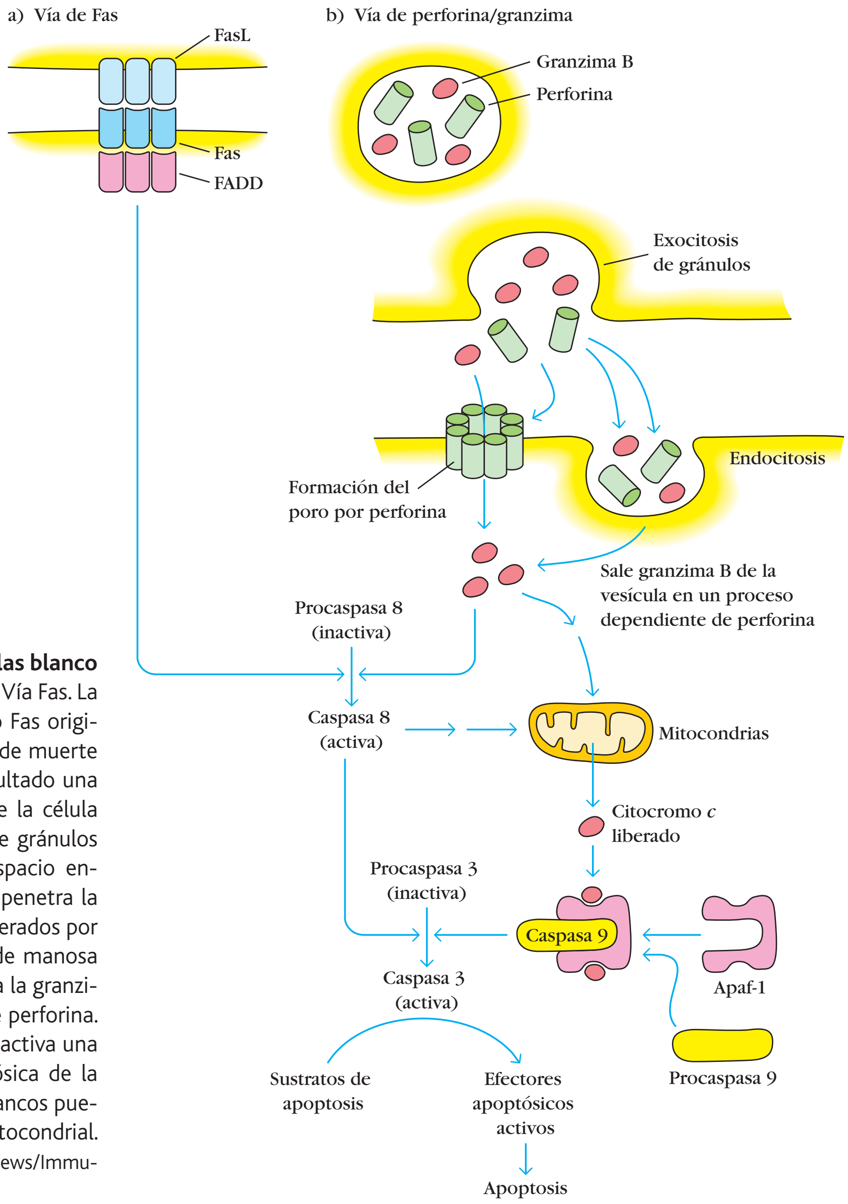

a) Vía de Fas
FasL
Fas
FADD
b) Vía de perforina/granzima
Granzima B
Perforina
Exocitosis de gránulos
Endocitosis
Formación del poro por perforina
Sale granzima B de la vesícula en un proceso dependiente de perforina
Procaspasa 8 (inactiva)
Caspasa 8 (activa)
Mitocondrias
Citocromo *c* liberado
Procaspasa 3 (inactiva)
Caspasa 9
Apaf-1
Caspasa 3 (activa)
Procaspasa 9
Sustratos de apoptosis
Efectores apoptósicos activos
Apoptosis

FIGURA 14-11 Dos vías de apoptosis de células blanco que estimulan linfocitos T citotóxicos (CTL). a) Vía Fas. La fijación de unidades triméricas de Fas por ligando Fas originado en CTL conduce a la unión de los dominios de muerte de Fas con FADD, lo que a su vez tiene como resultado una serie de reacciones que conducen a apoptosis de la célula blanco. b) Vía perforina/granzima. La exocitosis de gránulos libera granzimas y perforina del CTL hacia el espacio entre este último y la célula blanco. La granzima B penetra la célula blanco en dos formas: a través de poros generados por perforina o por unión a receptores de 6-fosfato de manosa que se endocitan después. A continuación se libera la granzima B al citoplasma en un proceso dependiente de perforina. La segmentación de procaspasa 8 por granzima B activa una cascada de caspasa que causa la muerte apoptósica de la célula, y la interacción de granzima B con otros blancos puede crear vías de muerte mediadas de manera mitocondrial. *[Adaptada de M. Barry y C. Bleackley, 2002,* Nature Reviews/Immunology ***2:****401.]*

Células asesinas naturales

Las células asesinas naturales se descubrieron de forma accidental cuando los inmunólogos medían la actividad in vitro de células específicas de tumor obtenidas de ratones con tumores. Ratones normales no inmunizados y ratones con tumores no relacionados sirvieron como testigos negativos. Para gran consternación de los investigadores, los testigos también sufrieron lisis considerable de células tumorales. La caracterización de esta destrucción inespecífica de células tumorales reveló que dependía de una población de linfocitos granulosos grandes. Las células, que se denominaron células asesinas naturales (NK) por su toxicidad inespecífica, constituyen cinco a 10% de la población recirculante de linfocitos. Estas células participan en defensas inmunitarias contra virus y tumores. Debido a que las células NK producen varias citocinas importantes desde el punto de vista inmunitario, tienen acciones notorias en la regulación inmunitaria e influyen en la inmunidad innata y la adaptativa. La producción de IFN-γ por células NK en particular puede afectar la participación de macrófagos en la inmunidad innata por activación de las actividades fagocíticas y microbicidas. El INF-γ derivado de células NK puede modificar el compromiso de T_H1 en comparación con T_H2 de las poblaciones de células T colaboradoras por sus efectos inhibidores en la expansión de T_H2 y estimular el desarrollo de T_H1 a través de la inducción de IL-12 por macrófagos y células dendríticas.

Las células NK participan en la reacción temprana a la infección por ciertos virus y bacterias intracelulares. La actividad de NK es estimulada por IFN-α, IFN-β e IL-12. En el transcurso de una infección vírica aumenta con rapidez el valor de estas citocinas, seguido muy de cerca por una onda de células NK que llega a su máximo en unos tres días (fig. 14-12). Las células NK son la primera línea de defensa contra una infección vírica y controlan la multiplicación del virus durante el tiempo necesario para la ac-

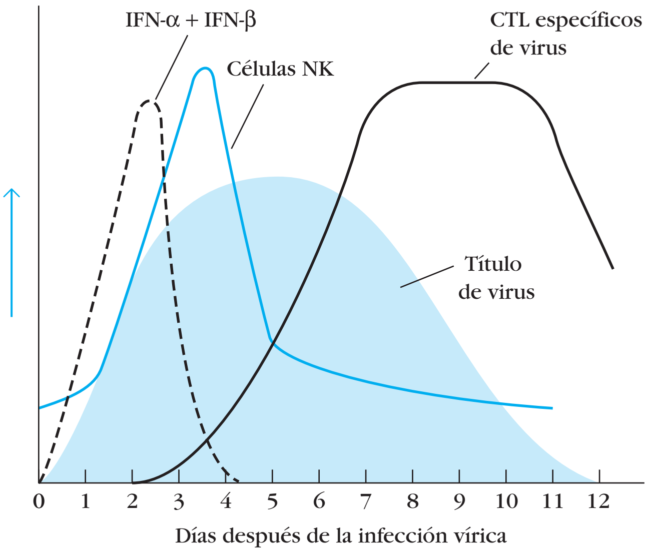


FIGURA 14-12 Curso de una infección vírica. Se liberan IFN-α e IFN-β (curva con guiones) de células infectadas por virus poco después de la infección. Estas citocinas estimulan a las células NK y conducen con rapidez a un incremento de la población de estas células (curva azul) desde el nivel basal. Las células NK ayudan a contener la infección durante el período necesario para generar los CTL (curva negra). Una vez que la población de CTL llega a un máximo, disminuye pronto el título del virus (área azul).

tivación, proliferación y diferenciación de células CTL-P en CTL funcionales, lo que toma alrededor de siete días. La importancia de las células NK en la defensa contra infecciones víricas se ilustra con el caso de una mujer joven que carecía por completo de estas células. Aunque esta enferma tenía cifras normales de células T y B, sufrió infecciones graves por virus de la varicela y una infección por citomegalovirus que puso en peligro su vida.

Las células asesinas naturales (NK) y las células T comparten algunas características

Las células NK son células linfoides derivadas de la médula ósea que comparten un progenitor temprano común con las células T, pero es necesario resolver su linaje en forma detallada. Expresan algunos marcadores de membrana que se encuentran en monocitos y granulocitos y algunos que son típicos de células T. Diferentes células NK expresan distintos grupos de moléculas de membrana. No se sabe si esta heterogeneidad indica subpoblaciones de células NK o diferentes etapas en su activación o maduración. Entre las moléculas de membrana que las células NK expresan se encuentran CD2, la subunidad β de 75 kDa del receptor IL-2 y, en casi todas las células NK, CD16 (o FcγRIII), un receptor para la región Fc de IgG. El agotamiento de células con anticuerpo anti-CD16 monoclonal elimina casi toda la actividad de células NK de sangre periférica. Como se expondrá más adelante, el número y el tipo de receptores activadores e inhibidores varía en las células NK.

A pesar de cierta similitud de las células NK con los linfocitos T, no se desarrollan de manera exclusiva en el timo. Los ratones lampiños, que carecen de timo y tienen muy pocas o nada de células T, presentan poblaciones funcionales de células asesinas naturales. A diferencia de las células T y B, las células NK no experimentan reordenamiento de genes para receptores: las células NK se desarrollan en ratones con desactivación de los genes de recombinasa *RAG-1* o *RAG-2.* Más aún, si bien no se encuentran células T o B en ratones SCID, existen poblaciones funcionales de células asesinas naturales. La potencia de las células NK, y de otros mecanismos de la inmunidad innata para proteger animales que carecen por completo de inmunidad adaptativa, la ilustra muy bien la familia de ratones con desactivación de *RAG-1* que se muestra en la figura 14-13.

La destrucción (muerte) por células asesinas naturales es similar a la mediada por linfocitos T citotóxicos

Al parecer, las células asesinas naturales destruyen células tumorales e infectadas por virus mediante procesos similares a los que ejercen los linfocitos T citotóxicos. Las células NK llevan FasL en su superficie e inducen con facilidad la muerte en células blanco que poseen Fas. El citoplasma de células NK contiene múltiples gránulos que incluyen perforina y granzimas. A diferencia de los CTL, que requieren activarse antes de la aparición de gránulos, las células NK son citotóxicas de manera constitutiva y siempre tienen gránulos grandes en su citoplasma. Después de adherirse las células NK a una célula blanco tiene lugar la desgranulación con liberación de perforina y granzimas en la unión entre las células interactuantes. Se piensa que perforina y granzimas tienen las mismas funciones en la muerte de células blanco por apoptosis mediada por NK que en el proceso de matanza mediada por linfocitos T citotóxicos.

FIGURA 14-13 Familia de ratones con desactivación del gen para *RAG-1*. Estos ratones carecen de inmunidad adaptativa porque no tienen células T y B. Sin embargo, las células NK y otros mecanismos de la inmunidad innata proporcionan suficiente protección contra infecciones; si se conservan en condiciones de limpieza, estos ratones pueden reproducirse y crear descendencia sana. Pese a ello, son más susceptibles a infecciones que los ratones normales y tienen períodos de vida reducidos. *[Del laboratorio de R. A. Goldsby.]*

Pese a estas similitudes, las células NK difieren de los CTL en varios aspectos importantes. Primero, las células NK no expresan receptores de célula T específicos de antígeno o CD3. Además, su reconocimiento de células blanco no es restringido en cuanto a MHC; es decir, en muchos casos se observan los mismos valores de actividad de célula NK en células tumorales singénicas y alogénicas. Más aún, aunque el cebamiento previo aumenta la actividad de CTL, la de las células NK no se incrementa después de una segunda inyección con las mismas células tumorales. En otras palabras, la respuesta de la célula NK no genera memoria inmunitaria.

Las células asesinas naturales tienen receptores de activación e inhibición

Si se considera que las células NK no expresan receptores específicos de antígeno, el mecanismo por el cual reconocen células propias alteradas y las diferencian respecto de células normales del cuerpo desconcertó a los inmunólogos durante años. Resultó que las células NK utilizan dos categorías diferentes de receptores, una que proporciona señales de inhibición a células NK y otra que lleva señales de activación. Al principio se pensó que había dos receptores, uno que activaba y otro que inhibía las células NK, el llamado *modelo de dos receptores*. La teoría actual, el *modelo de señales opuestas*, sostiene que existen muchos receptores de superficie celular distintos para señales de activación y algunos inhibitorios distintos. Las células NK distinguen las células sanas de las infectadas o cancerosas a través de un balance entre señales activadoras e inhibidoras. Es posible que factores solubles, como citocinas (p. ej., interferones α y β, TNF-α, IL-12 e IL-15), emitan señales activadoras de NK adicionales.

Los receptores de células NK caen en dos categorías generales con base en sus características estructurales: receptores tipo lectina y tipo inmunoglobulina. Como se expone en el capítulo 7, las lectinas son un grupo de proteínas que se unen a carbohidratos específicos; los receptores de célula NK tipo lectina reciben ese nombre debido a su semejanza estructural con proteínas de este grupo. A pesar de esta semejanza, la mayoría de los receptores de célula NK tipo lectina se une a proteínas y no a carbohidratos. El segundo grupo de receptores, miembros de la superfamilia de las inmunoglobulinas, incluye los receptores tipo inmunoglobulina de células asesinas (**KIR**, del inglés *killer-cell immunoglobulin-like receptors*), que se unen a moléculas HLA-B o HLA-C. Existen además otros receptores inhibidores tipo Ig, como ILT/LIR, que se unen a la mayoría de las moléculas clase I. Dado que las primeras moléculas KIR descubiertas eran receptores inhibidores. Los KIR se llamaron inicialmente receptores *inhibidores* de células asesinas. Cuando estudios posteriores revelaron que tanto el grupo KIR como el grupo tipo lectina incluían receptores inhibidores y activadores, la designación se cambió a receptor de célula asesina *tipo inmunoglobulina*. La estructura extracelular del receptor de célula NK (tipo Ig o tipo lectina) no lo identifica de manera inmediata como inhibidor o activador, porque hay receptores activadores e inhibidores en ambos grupos estructurales.

Para complicar aún más las cosas, algunos receptores pueden ser tanto activadores como inhibidores; las regiones citoplásmicas de algunos receptores de NK con estructuras extracelulares idénticas tienen distintos dominios intracelulares y por tanto diferentes propiedades de señalización. Por ejemplo, el receptor tipo lectina CD94/NKG2 tiene dos formas, CD94/NKG2A y CD94/NKG2C. Aunque ambas se unen a ligandos similares, la forma A recluta fosfatasas y envía señales inhibidoras, mientras que la forma C se enlaza a una molécula adaptadora y emite señales activadoras. Las secuencias intracelulares de los receptores de NK que activan son ITAM (motivos de activación de inmunoreceptor basados en fosfato de tirosina, fig. 11-8), mientras que las secuencias intracelulares de receptores inhibidores son ITIM (motivos inhibidores de inmunorreceptor basados en fosfato de tirosina; fig. 11-11). La confusión causada por este doble efecto de la misma reacción de unión a ligando se resuelve en alguna medida por el hecho de que las formas A y C de los receptores CD94/NKG2 nunca se han observado en la misma célula. Sin embargo, en la misma célula pueden estar presentes receptores inhibidores y activadores. Las señales de inhibición tienen la capacidad de superar a las señales de activación, lo cual proporciona salvaguardas importantes para las células hospedadoras normales.

Aún no se aclara por completo la naturaleza exacta de los receptores unidos a la membrana en células NK que producen activación. El enlace cruzado de anticuerpo de muchas moléculas que se encuentran en la superficie de las células NK puede activarlas de forma artificial, pero se desconocen los ligandos naturales para algunos de estos supuestos receptores de activación (AR).

Algunos de los AR candidatos son miembros de una clase de proteínas de unión de carbohidratos que se conoce en conjunto como **lectinas tipo C**, llamadas así porque tienen dominios de reconocimiento de carbohidratos dependientes de calcio. En particular, el NKG2D ha surgido como un importante receptor para la activación de la célula NK. Actúa a través de una cascada de señalización similar a la iniciada por CD28 en las células T. Los ligandos para NKG2D incluyen MIC-A, MIC-B y la familia ULPB de proteínas en seres humanos y H60, Mult1 y la familia Rae-1 de proteínas en ratones. La expresión de ligandos de NKG2D a menudo se induce en células sometidas a estrés, como el daño del DNA por infección. Al parecer el NKG2D está adaptado para participar en una inmunorreacción innata rápida a diversas condiciones patológicas. Sin embargo, también se ha informado una contribución de NKG2D a las respuestas autoinmunitarias.

Además de las lectinas, podrían participar en la activación otras moléculas presentes en las células NK, entre ellas CD2 (receptor para la molécula de adhesión LFA-3), CD 244 (también llamado 2B4, el receptor para CD48) y el receptor FcγIII, CD16. Aunque CD16 tiene a su cargo el reconocimiento y la destrucción de células blanco por células NK mediados por anticuerpo, es probable que no intervenga en la destrucción no dependiente de anticuerpo. Además de las moléculas mencionadas, tres proteínas adicionales, NKp30, NKp44 y NKp46, tienen al parecer acciones relevantes en la activación de células NK humanas.

Aún no se identifican los ligandos de células blanco reconocidos por la mayoría de los receptores activadores de células NK, e incluso algunos que se han identificado parecen funcionar de manera ambigua como activadores y como inhibidores. Por ejemplo, el par de receptores CD94/NKG2A y C mencionado antes puede transducir señales activadoras o inhibidoras en respuesta a la unión del mismo ligando. Los ligandos de activación mejor caracterizados son las moléculas MIC-A y MIC-B codificadas por HLA. Se trata de moléculas tipo MHC clase I no polimórficas (aunque no se unen a microglobulina β-2) que son reconocidas por el receptor tipo lectina NKG2D. Las proteínas MIC-A y MIC-B son inducibles, y se expresan en células que han sido sometidas a estrés por infección, calor o traumatismo. Cuando el receptor tipo lectina NKG2D se une a estas proteínas inducidas por estrés, la respuesta incluye el reclutamiento de gránulos citotóxicos y la liberación de citocinas, lo cual conduce a la muerte de la célula blanco. Otros receptores activadores presentes en la mayoría de las células NK son NKp30, NKp44 y NKp46. Estas moléculas tipo Ig estructuralmente relacionadas participan en la muerte de células tumorales, pero se desconoce la identidad de los ligandos que reconocen en las células tumorales.

Los ligandos inhibidores de células NK están mejor caracterizados que los ligandos activadores. Los indicios sobre los orígenes de las señales inhibidoras provinieron de estudios sobre la muerte de células tumorales y células infectadas por virus a cargo de células NK. Los investigadores determinaron que la matanza preferencial de células tumorales de ratón comparada con la de células normales se correlacionaba con la falta de expresión de moléculas MHC por las primeras. Experimentos con células humanas mostraron que las células NK lisaban una línea de células B que era deficiente en MHC como resultado de la transformación por el virus de Epstein-Barr. Cuando esta línea celular se transfectó con genes HLA humanos, de tal manera que expresara concentraciones elevadas de moléculas de MHC, las células NK ya no pudieron lisarla. Estas observaciones llevaron a la idea de que las células NK se enfocan en destruir células que tienen una expresión aberrante del MHC. Debido a que muchas células infectadas por virus y tumorales tienen expresión disminuida de MHC, este modelo, llamado “modelo de identidad perdida”, tiene sentido desde el punto de vista fisiológico. El apoyo a esta propuesta provino del descubrimiento de receptores de célula NK que producen señales inhibidoras cuando reconocen moléculas MHC en posibles células blanco. Estos receptores inhibidores en la célula NK previenen entonces la destrucción por la célula NK, la proliferación y la liberación de citocina.

En seres humanos, la mayoría de los receptores inhibidores son moléculas tipo Ig. Una excepción es el receptor inhibidor tipo lectina CD94/NKG2A, un heterodímero unido por enlaces disulfuro que consta de dos glucoproteínas, una de las cuales es CD94 y la otra un miembro de la familia NKG2. Los receptores CD94/NKG2 reconocen HLA-E en células blanco potenciales. Debido a que HLA-E no se transporta a la superficie de una célula a menos que esté unido a un péptido derivado de HLA-A, HLA-B o HLA-C, la cantidad de HLA-E en la superficie sirve como indicador del grado total de biosíntesis de MHC clase I en las células. Estos receptores CD94/NKG2 inhibidores reconocen el HLA-E de superficie y envían señales inhibidoras a la célula NK, con el resultado neto de inhibir la destrucción de posibles células blanco si expresan valores adecuados de clase I.

Los receptores inhibidores KIR, que muestran considerable diversidad, generalmente son específicos para un solo producto polimórfico de un locus HLA dado o para un número limitado de moléculas HLA relacionadas. A diferencia de los anticuerpos en células B y los TCR en células T, que tienen la propiedad de exclusión alélica, las células NK no se limitan a expresar un KIR inhibidor individual, sino que pueden expresar varios, cada uno específico para una molécula MHC diferente o para un grupo de moléculas MHC estrechamente relacionadas. Por ejemplo, se han hallado clonas individuales de células NK humanas que expresan un receptor CD94/NKG2 y hasta seis receptores KIR diferentes.

Debido a que las señales de receptores inhibidores pueden contrarrestar señales de receptores de activación, una señal negativa de cualquier receptor inhibidor, sea del tipo CD94/NKG2A o del KIR, puede bloquear la lisis de células blanco por células asesinas naturales. Por lo tanto, las células que expresan valores normales de moléculas MHC clase I no alteradas tienden a escapar a todas las formas de destrucción mediada por células NK. De manera sorprendente, al parecer la familia KIR surgió por evolución con extremada rapidez. Los receptores KIR funcionales presentes en la línea de los primates no existen en roedores. Éstos usan una familia diferente de receptores, la familia Ly49 tipo lectina, para asumir la función de los KIR, a saber la inhibición de células NK a través de la unión a moléculas MHC clase I en células sanas. En el ser humano no existen receptores Ly49 funcionales.

En el modelo de señales opuestas de regulación de las células NK que está surgiendo de estudios de células NK (fig. 14-14), los receptores de activación se unen a ligandos (la mayoría de los cuales se desconocen) en la célula blanco tumoral, infectada por virus o de algún otro modo estresada. El reconocimiento de estos determinantes por receptores activadores indicaría a las células NK que destruyeran las células blanco. Las señales de muerte pueden ser contrarrestadas por señales procedentes de receptores inhibidores. Como ya se expuso, los receptores inhibidores emiten una señal que cancela señales de activación cuando estos receptores inhibidores identifican valores normales de expresión de MHC clase I en posibles células blanco. Esto evita la muerte de la célula blanco. Asimismo, impide la proliferación de células NK y la inducción de secreción de citocinas, como IFN-γ y TNF-α. Como consecuencia general del modelo de señales de oposición, se respetan las células que expresan indicadores críticos de moléculas de MHC clase I propias, normales, y se destruyen células que carecen de indicadores de lo propio: están ausentes valores normales de MHC clase I.

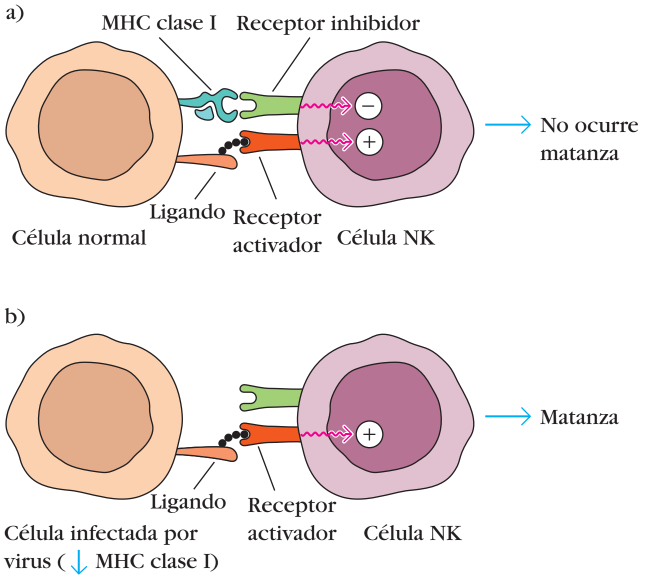


FIGURA 14-14 Modelo de señales opuestas para el modo en que la actividad citotóxica de células NK se restringe a células propias alteradas. Un receptor de activación (AR) en células NK interactúa con su ligando en células propias normales y alteradas, lo que induce una señal de activación que ocasiona destrucción. No obstante, la unión de receptores inhibidores de células NK como KIR y CD94/NKG2 inhibidores por moléculas MHC clase I envía una señal inhibidora que contrarresta la señal de activación. Por consiguiente, la expresión de moléculas clase I en células normales evita su destrucción por células asesinas naturales. Debido a que muchas veces la expresión clase I está disminuida en células propias alteradas, predomina la señal de muerte, que conduce a su destrucción.

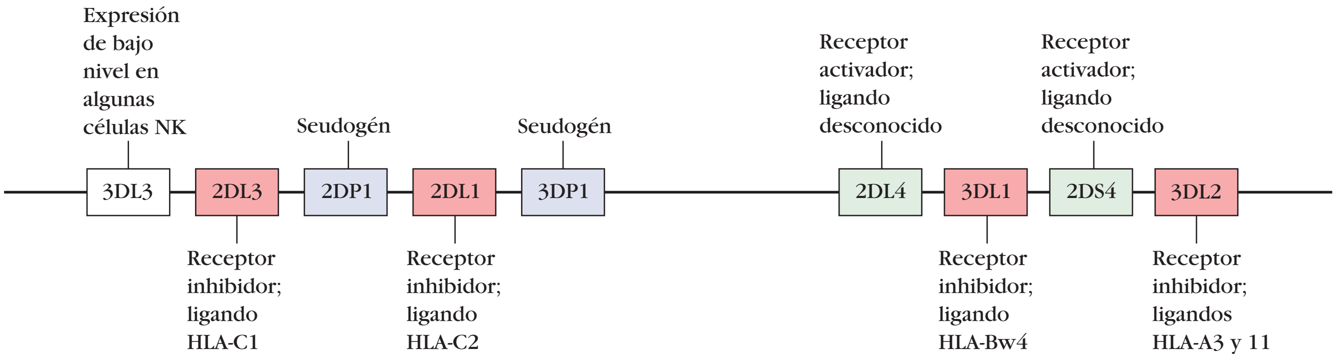
ENFOQUE CLÍNICO

Combinaciones de genes MHC-KIR influyen en la salud

Las células NK son componentes importantes de la inmunidad innata: destruyen células del hospedador que han sido alteradas por infección vírica, estrés o transformación tumoral. Además, las células NK expresan citocinas que promueven inmunorreacciones adaptativas. Las células NK actúan a través de dos tipos de receptores: receptores activadores que inician la matanza de células reconocidas como aberrantes y receptores inhibidores que abortan la función de muerte cuando reconocen determinados marcadores de superficie del hospedador, como moléculas MHC clase I. El balance entre estas actividades opuestas es crítico para el bienestar del hospedador. Una deficiencia de sucesos activadores puede dar por resultado cáncer, infección vírica y acumulación de células no funcionales dañadas. Los defectos en la actividad inhibitoria pueden ocasionar la muerte de células normales del hospedador. Los receptores de célula NK que median estas actividades corresponden a dos familias estructurales: los receptores tipo lectina y los receptores tipo inmunoglobulina de célula asesina, o KIR. Ambos grupos estructurales incluyen receptores activadores e inhibidores.

Mientras que los receptores tipo lectina son altamente conservados, con poca variación dentro de una especie, la familia KIR de receptores de NK es un grupo diverso de proteínas. Los KIR son codificados dentro de una región del cromosoma 19 humano denominada *complejo receptor leucocítico*. El número de genes para KIR en un haplotipo dado varía de nueve a 14 miembros, y los genes de KIR individuales son en sí mismos polimórficos. En la figura se muestra el haplotipo KIR A (el haplotipo más común en sujetos caucásicos), donde las nueve proteínas codificadas se identifican por función. Obsérvese que dentro de este haplotipo KIR hay dos receptores activadores y cuatro inhibidores.

Aunque no se han descubierto los ligandos para la mayoría de los receptores activadores, se conocen los correspondientes a los receptores inhibidores. La mayoría son formas alélicas de moléculas MHC clase I. Dado que las moléculas KIR son en sí mismas variables en una población y que reconocen proteínas codificadas dentro del altamente diverso complejo MHC (cap. 8), surge una interesante pregunta de tipo genético: puesto que los genes MHC y los genes KIR se segregan de manera independiente, ¿podrían algunas combinaciones de genes MHC y KIR dar por resultado la ausencia de ligandos inhibidores codificados por MHC necesarios para el hospedador, con


Expresión de bajo nivel en algunas células NK
Seudogén
Seudogén
Receptor activador; ligando desconocido
Receptor activador; ligando desconocido
3DL3
2DL3
2DP1
2DL1
3DP1
2DL4
3DL1
2DS4
3DL2
Receptor inhibidor; ligando HLA-C1
Receptor inhibidor; ligando HLA-C2
Receptor inhibidor; ligando HLA-Bw4
Receptor inhibidor; ligandos HLA-A3 y 11

Haplotipo KIR A humano. *[Tomada de P. Parham, 2005,* Nature Reviews Immunology ***5****:201.]*

Células NKT

La exposición anterior abarca los CTL, un componente importante de la inmunidad adaptativa que expresa un TCR específico de antígeno, y la célula NK, un componente de la inmunidad innata que porta receptores KIR y tipo lectina, análogos a los receptores de reconocimiento de patrón. En fechas recientes se identificó un tercer tipo, con características comunes al CTL y a la célula NK. Este tipo celular, designado NKT para indicar su calidad híbrida, tiene complejos TCR en su superficie pero pocas otras cualidades en común con los linfocitos T. La célula NKT se considera parte del sistema inmunitario innato, con base en varias propiedades comunes a las reacciones innatas:

- El receptor de célula T en la célula NKT humana es invariante, y las cadenas TCRα y TCRβ son codificadas por segmentos génicos específicos ($V_{\alpha}24$-$J_{\alpha}18$ y $V_{\beta}11$, respectivamente) dentro del DNA de la línea germinal; las células que expresan esta combinación de TCRαβ algunas veces se denominan células NKT invariantes o iNKT.
- Los TCR en las células NKT no reconocen péptidos unidos a MHC sino un glucolípido presentado por la molécula CD1d no polimórfica (fig. 8-25).

la consecuencia de defectos de la inhibición de la activación?

Esta posibilidad fue examinada en varios estudios, en los cuales se encontró que determinadas combinaciones MHC-KIR ciertamente influyen en el avance de la enfermedad y también se vinculan con problemas reproductivos como abortos espontáneos frecuentes o preeclampsia (el término común para este trastorno es toxemia; se caracteriza por hipertensión grave y retención de líquido durante el embarazo). En el cuadro adjunto se enumeran algunos de los trastornos más comunes relacionados con las diversas combinaciones genéticas. Obsérvese que algunas combinaciones MHC-KIR parecen aminorar el avance de determinadas infecciones, mientras que la misma infección puede ser empeorada por otras combinaciones. La neoplasia cervical inducida por el virus del papiloma humano (véase en enfoque clínico del cap. 21) es un ejemplo de trastorno en el cual el avance de la enfermedad es favorecido por algunas combinaciones de KIR y MHC y frenado por otras. Las afecciones autoinmunitarias diabetes tipo I y artritis psoriásica se intensifican en sujetos con combinaciones KIR-MHC que se predice inhiben menos la actividad de NK.

Los mecanismos que subyacen a la relación entre diferentes combinaciones KIR-MHC y enfermedades y problemas de fecundación siguen siendo especulativos. Por ejemplo, en investigaciones actuales se intenta determinar si algunos trastornos son causados por exceso o deficiencia de inhibición de la actividad de células NK a causa de combinaciones KIR-MHC. En el cuadro se presentan algunos resultados iniciales para determinadas enfermedades.

Históricamente, es probable que ciertas combinaciones KIR-MHC hayan influido en aptitud física general, vigor reproductivo relativo de diversos tipos genéticos, e incluso supervivencia durante epidemias. A medida que se descubra más acerca de los mecanismos específicos por los cuales los productos de estas familias génicas influyen en la salud humana, podremos esperar descubrir por qué la selección natural favoreció determinadas combinaciones.

Asociaciones entre enfermedad y combinaciones de genes KIR-HLA

Enfermedad	**KIR**	**HLA**	**Avance de la enfermedad**	**Contribución propuesta de los KIR**
SIDA	*3DS1* Homocigoto para *3DS1*	*HLA-Bw4*^{Ile80} No *HLA-Bw4*^{Ile80}	Disminuye Aumenta	Menos inhibición Más inhibición
Infección por HPV	Homocigoto para *2DL3*	Homocigoto para *HLA-C1*	Disminuye	Menos inhibición
Neoplasia cervical (inducida por HPV)	*3DS1* No *3DS1*	Homocigoto para *HLA-C1* y no *HLA-Bw4* *HLA-C2*, *HLA-Bw4* o ambos	Aumenta Disminuye	Menos inhibición Más inhibición
Melanoma maligno	*2DL2*, *2DL3* o ambos	*HLA-C1*	Aumenta	Más inhibición
Artritis psoriásica	*2DS1*, *2DS2* o ambos	Homocigoto para *HLA-C1* u homocigoto para *HLA-C2*	Aumenta	Menos inhibición
Diabetes tipo 1	*2DS2*	*HLA-C1* y no *HLA-C2*, no *HLA-Bw4*	Aumenta	Menos inhibición
Preeclampsia	*2DL1* con menos *2DS* (madre)	*HLA-C2* (feto)	Aumenta	Más inhibición

FUENTE: S. Rajagopalan y E. Long, 2005, Understanding how combinations of HLA and KIR genes influence disease. *Journal of Experimental Medicine* **201:**1025.

- Las células NKT no forman células de memoria.
- Las células NKT no expresan varios marcadores característicos de los linfocitos T, sino los característicos de las células NK.

La función exacta de las células NKT en la inmunidad aún está por definirse. Un indicio es que el desarrollo de estas células en el timo requiere de un glucoesfingolípido lisosómico, iGb3 (isoglobotrihexosilceramida); hay glucosilceramidas similares en muchas especies bacterianas, y dado que activan la respuesta de células NKT, es probable que estas últimas participen en la inmunidad antibacteriana. Algunos experimentos muestran que los ratones que carecen de células NKT montan una reacción deficiente a determinadas infecciones bacterianas con bajas concentraciones de *Sphingomonas* o *Ehrlichia*. La infección con altas dosis de *Sphingomonas* causa sepsis y muerte en ratones de tipo silvestre, pero los que carecen de células NKT sobreviven, lo cual sugiere que estas células reaccionan a los antígenos bacterianos con la expresión de citocinas. (Véase en el capítulo 12 una descripción del papel de las citocinas proinflamatorias en el inicio de la sepsis.) Otros datos que implican a la célula NKT en la inmunidad a tumores sugieren que las células NKT reconocen antígenos lipídicos específicos de las células tumorales.

Citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo

Varias células con potencial citotóxico expresan receptores de membrana para la región Fc de la molécula de anticuerpo. Cuando el anticuerpo se une de forma específica a una célula blanco, estas células que llevan el receptor pueden unirse a la región Fc del anticuerpo, y por tanto a las células blanco, y ocasionar de modo subsecuente lisis de la célula blanco. Aunque estas células citotóxicas no son específicas de antígeno, la especificidad del anticuerpo las dirige a células blanco específicas. Esta clase de acción se denomina **citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo** (**ADCC**).

Entre las células que pueden mediar ADCC se encuentran NK, macrófagos, monocitos, neutrófilos y eosinófilos. Es posible observar in vitro la destrucción mediada por células dependiente de anticuerpo de células infectadas con virus del sarampión si se añade anticuerpo antisarampión junto con macrófagos a un cultivo de células infectadas con sarampión. De igual forma, puede observarse in vitro la destrucción mediada por células de helmintos, como esquistosomas o fasciolas sanguíneas, al incubar larvas (esquistosómulos) con anticuerpo contra los esquistosómulos junto con eosinófilos.

La destrucción de células blanco por ADCC incluye al parecer varios mecanismos citotóxicos diferentes, pero sin lisis mediada por complemento (fig. 14-15). Cuando se unen a célula blanco macrófagos, neutrófilos o eosinófilos por medio del receptor Fc, se tornan más activos desde el punto de vista metabólico; como resultado, aumentan las enzimas líticas en sus lisosomas o gránulos citoplásmicos. La liberación de estas enzimas líticas en el sitio del contacto mediado por Fc puede tener como resultado el daño de la célula blanco. Además, se ha demostrado que monocitos, macrófagos y células NK activados secretan factor de necrosis tumoral (TNF), que puede tener un efecto citotóxico en la célula blanco unida. Debido a que las células NK y los eosinófilos contienen perforina en los gránulos citoplásmicos, su destrucción de células blanco también puede incluir el daño de la membrana mediado por perforina, similar al mecanismo descrito para la citotoxicidad mediada por linfocitos T citotóxicos (CTL).

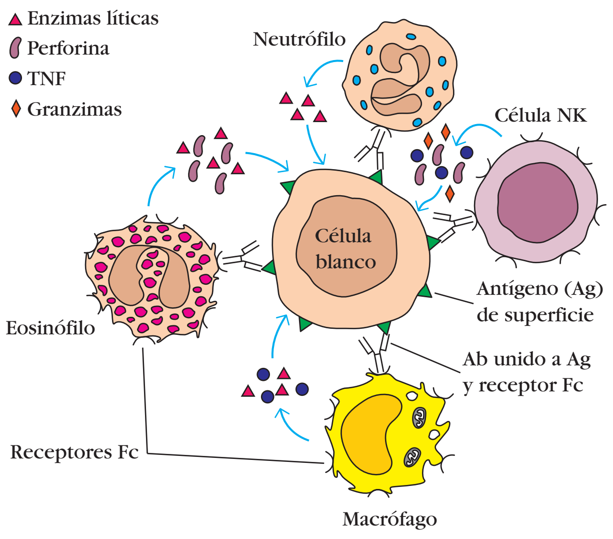


FIGURA 14-15 Citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo (ADCC). Las células citotóxicas inespecíficas se dirigen a células blanco específicas por unión a la región Fc de anticuerpo unido a antígenos de superficie en las células blanco. Varias sustancias (p. ej., enzimas líticas, TNF, perforina, granzimas) secretadas por las células citotóxicas inespecíficas median entonces la destrucción de la célula blanco.

Valoración experimental de la citotoxicidad mediada por células

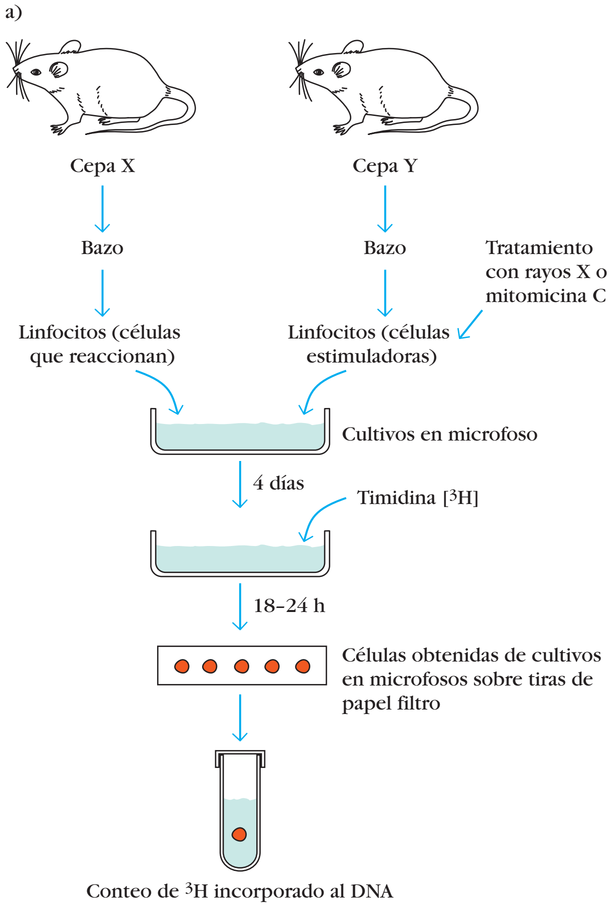
Tres sistemas experimentales han resultado en particular útiles para medir las fases de activación y efectora de las respuestas citotóxicas mediadas por células:

- La *reacción de linfocitos mixtos (MLR)* es un sistema in vitro para valorar la proliferación de células T_H en una reacción mediada por células.
- La *linfólisis mediada por células (CML)* es una valoración in vitro de la función efectora citotóxica.
- La *reacción de injerto contra hospedador (GVH)* en animales experimentales proporciona un sistema in vivo para estudiar la citotoxicidad mediada por células.

El cultivo concurrente de células T con células extrañas estimula la reacción de linfocitos mixtos

Durante la década de 1960, un momento temprano en la historia de la inmunología celular moderna, se observó que al cultivar linfocitos de rata en una monocapa de fibroblastos de ratón proliferaron los linfocitos de rata y destruyeron a los fibroblastos. En 1970 se descubrió que también podían generarse CTL funcionales mediante el cultivo concurrente de células alogénicas de bazo en un sistema denominado **reacción de linfocitos mixtos (MLR)**. Los linfocitos T en una MLR experimentan transformación de blastos y proliferación celular extensa. El grado de proliferación puede estimarse al añadir timidina [^{3}H] al medio de cultivo y vigilar la captación del marcado en el DNA en el transcurso de divisiones celulares repetidas.

En una MLR proliferan ambas poblaciones de linfocitos T alogénicos, a menos que se evite que responda una población al tratarla con mitomicina C o radiación X letal (fig. 14-16). En este sistema, llamado MLR de una vía, la población que no reacciona proporciona células estimuladoras que expresan aloantígenos extraños a las células T que responden. En el transcurso de 24 a 48 h, las células T que responden comienzan a dividirse como reacción a los aloantígenos de las células estimuladoras, y alrededor de 72 a 96 h después se genera una población de CTL funcionales en expansión. Con este sistema experimental es posible crear in vitro CTL funcionales, después de lo cual se puede estimar su actividad con diversas valoraciones de efectores.


a)
Cepa X
Cepa Y
Bazo
Bazo
Tratamiento con rayos X o mitomicina C
Linfocitos (células que reaccionan)
Linfocitos (células estimuladoras)
Cultivos en microfoso
4 días
Timidina [3H]
18–24 h
Células obtenidas de cultivos en microfosos sobre tiras de papel filtro
Conteo de 3H incorporado al DNA

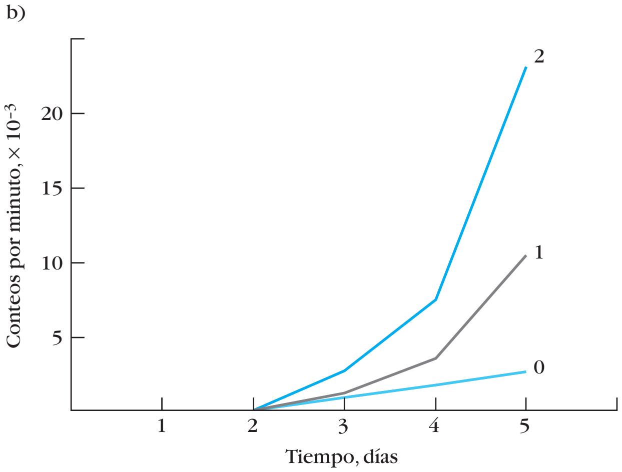


FIGURA 14-16 Reacción de linfocitos mixtos en una vía (MLR). a) Esta valoración mide la proliferación de linfocitos de una cepa (células que reaccionan) en respuesta a células alogénicas que se radiaron con rayos X o se trataron con mitomicina C para evitar la proliferación (células estimuladoras). La cantidad de timidina [^{3}H] incorporada en el DNA es directamente proporcional a la magnitud de la proliferación de células que reaccionan. b) La cantidad de captación de timidina [^{3}H] en MLR de un sentido depende del grado de diferencias en las moléculas MHC clase II entre las células estimuladora y la que reacciona. Curva 0, sin diferencias de MHC clase II; curva 1, una diferencia de MHC clase II; curva 2, dos diferencias de MHC clase II. Estos resultados demuestran que cuanto mayores son las diferencias de MHC clase II, tanto mayor es la proliferación de células que reaccionan.

El importante papel de las células T_H en la MLR de una vía puede demostrarse al utilizar anticuerpos contra el marcador CD4 de membrana de la célula T_H. En una MLR de una vía, las células T_H que responden reconocen moléculas MHC clase II alogénicas en las células estimuladoras y proliferan en respuesta a estas diferencias. La eliminación de células T_H CD4$^+$ de la población que responde mediante anti-CD4 aunada a complemento suprime la MLR e impide la generación de linfocitos T citotóxicos (CTL). Además de células T_H, para la MLR se requieren asimismo células accesorias como macrófagos. Cuando se eliminan células adherentes (sobre todo macrófagos) de la población estimuladora, se suprime la reacción proliferativa en la MLR y ya no se crean más CTL funcionales. La función de estos macrófagos consiste en activar las células T_H restringidas a MHC clase II, cuya proliferación se cuantifica en la reacción de linfocitos mixtos (MLR). Cuando no se activa la célula T_H, no hay proliferación.

Es posible demostrar la actividad de linfocitos T citotóxicos mediante linfólisis mediada por células

El desarrollo de la valoración de **linfólisis mediada por células (CML)** fue un adelanto experimental de importancia que contribuyó al conocimiento del mecanismo de destrucción de células blanco por linfocitos T citotóxicos. En esta valoración se marcaron de modo intracelular células blanco adecuadas con cromo 51 (^{51}Cr) y se incubaron las células blanco con Na$_2{}^{51}$CrO$_4$. Después de difundirse el ^{51}Cr dentro de una célula, se une a proteínas citoplásmicas y reduce la difusión pasiva del marcador fuera de la célula. Cuando se incuban CTL activados de forma específica durante una a cuatro horas con estas células blanco marcadas, se lisan las células y se libera el ^{51}Cr. La cantidad de ^{51}Cr liberado se correlaciona de manera directa con el número de células blanco lisadas por los CTL. Mediante esta valoración se demostró la especificidad de CTL para células alogénicas, tumorales, infectadas por virus y modificadas por medios químicos (fig. 14-17).

Las células T que tienen a su cargo la CML se identificaron al eliminar de manera selectiva diferentes subpoblaciones de células T mediante lisis con anticuerpo más complemento. En general, la actividad de CTL muestra restricción a MHC clase I. Es decir, sólo pueden destruir células blanco que presentan antígeno acompañado de moléculas MHC clase I singénicas. Sin embargo, se ha demostrado que en ocasiones las células T CD4$^+$ restringidas a clase II actúan como linfocitos T citotóxicos.

La reacción de injerto contra hospedador indica citotoxicidad mediada por células

La **reacción de injerto contra hospedador (GVH)** se presenta cuando se inyectan linfocitos con capacidad inmunitaria en un receptor alogénico cuyo sistema inmunitario está alterado. Puesto que el donador y el receptor no son idénticos en sentido genético,

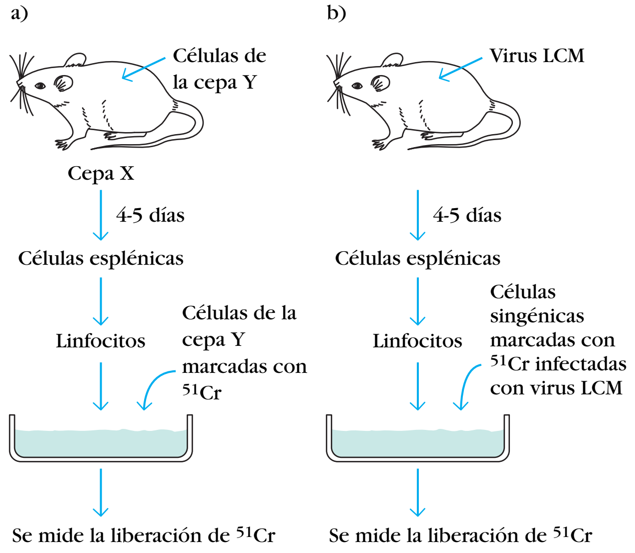

a)
Células de la cepa Y
Cepa X
4-5 días
Células esplénicas
Linfocitos
Células de la cepa Y marcadas con ^{51}Cr
Se mide la liberación de ^{51}Cr
b)
Virus LCM
4-5 días
Células esplénicas
Linfocitos
Células singénicas marcadas con ^{51}Cr infectadas con virus LCM
Se mide la liberación de ^{51}Cr

FIGURA 14-17 Valoración de linfólisis mediada por células (CML) in vitro. Esta valoración puede medir la actividad de linfocitos T citotóxicos (CTL) contra células alogénicas (a) o células infectadas por virus (b). En ambos casos, la liberación de ^{51}Cr hacia el sobrenadante indica la presencia de CTL que puede lisar las células blanco.

los linfocitos injertados atacan al hospedador y el estado alterado de este último impide una reacción inmunitaria contra el injerto. En el ser humano, las reacciones de GVH suelen presentarse después del trasplante de médula ósea en sujetos expuestos a radiación o que sufren leucemia, enfermedades por inmunodeficiencia o anemias autoinmunitarias. Las manifestaciones clínicas de la reacción de GVH incluyen diarrea, lesiones en la piel, ictericia, crecimiento del bazo y muerte. Con frecuencia se tornan necróticas las células epiteliales de la piel y el tubo digestivo y se desarrolla esfacelo de la piel y el recubrimiento intestinal.

De forma experimental se desarrollan reacciones de GVH cuando se transfieren linfocitos inmunocompetentes a un animal neonatal alogénico o sometido a radiación X. Los receptores, en especial los neonatales, casi siempre presentan pérdida de peso. Los linfocitos injertados se desplazan a varios órganos, incluido el bazo, en donde comienzan a proliferar en respuesta a los antígenos de MHC alogénicos del hospedador. Esta proliferación da lugar a la aparición de células hospedadoras y el resultado es el crecimiento visible del bazo (esplenomegalia). Es posible valorar la intensidad de una reacción de GVH al calcular el *índice esplénico* como sigue:

$$\text{Índice esplénico} = \frac{\begin{array}{c}\text{peso del bazo experimental/}\\ \text{peso corporal total}\end{array}}{\begin{array}{c}\text{peso del bazo testigo/}\\ \text{peso corporal total}\end{array}}$$

Se considera que un índice esplénico de 1.3 o mayor indica una reacción de GVH positiva. El crecimiento del bazo resulta de la proliferación de poblaciones de células T CD4$^+$ y CD8$^+$. Asimismo, se ha demostrado que las células NK participan en la reacción de GVH y pueden propiciar algunas de las lesiones de la piel y el daño de la pared intestinal.

RESUMEN

- La rama del sistema inmunitario mediada por células incluye dos tipos de células efectoras específicas de antígeno: linfocitos T citotóxicos (CTL) y células T CD4$^+$. Comparadas con las células T_H y T_C vírgenes, las células efectoras se activan con mayor facilidad, expresan valores más altos de moléculas de adhesión celular, muestran patrones diferentes de tráfico y producen moléculas efectoras solubles y de membrana.
- La primera fase de la reacción inmunitaria mediada por CTL incluye la activación y diferenciación de células T_C, llamadas precursores de linfocitos T citotóxicos (CTL-P). Aún se desconocen los detalles del proceso de activación, como la participación de las células T_H1.
- Es posible identificar y seguir poblaciones CD8$^+$ específicas de antígeno si se les marca con tetrámetros MHC.
- La segunda fase de la respuesta mediada por CTL incluye varios pasos: reconocimiento de células blanco mediado por TCR-MHC, formación de conjugados de CTL/célula blanco, reorientación de gránulos citoplásmicos de CTL hacia la célula blanco, liberación de gránulos, formación de poros en la membrana de la célula blanco, disociación de CTL del blanco y muerte de la célula blanco.
- Los linfocitos T citotóxicos (CTL) inducen muerte celular por dos mecanismos: la vía de perforina-granzima y la vía de Fas/FasL.
- Varias células citotóxicas inespecíficas (no dependientes de MHC) (células NK, neutrófilos, eosinófilos, macrófagos) también pueden destruir células blanco. Muchas de estas células se unen a la región Fc del anticuerpo en células blanco y liberan de forma subsecuente enzimas líticas, perforina o TNF, que dañan la membrana de la célula blanco, un proceso llamado citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo (ADCC).
- Las células NK median la lisis de células tumorales e infectadas por virus por la formación de poros consecutiva a la perforina, un mecanismo similar a uno de los que utilizan los linfocitos T citotóxicos (CTL).
- Los receptores de célula NK se clasifican en dos grupos estructurales: los receptores tipo lectina y los receptores tipo Ig. Hay receptores activadores e inhibidores en ambos grupos. Al unirse a sus ligandos, los receptores de célula NK transducen señales vía ITAM (activadores) o ITIM (inhibidores).
- La expresión de valores relativamente altos de moléculas MHC clase I en células normales las protege contra la destrucción mediada por células asesinas naturales (NK). El equilibrio entre señales positivas generadas por la inclusión de receptores de activación y señales negativas de receptores inhibidores regula la destrucción por células NK.
- Las células NKT tienen características tanto de linfocitos T como de células NK; la mayoría expresa un TCR invariante y marcadores comunes a las células NK.

Bibliografía

Behrens, G., et al. 2004. Helper T cells, dendritic cells and CTL immunity. *Immunology and Cell Biology* **82:**84.

Bossi, G., and G. M. Griffiths. 2005. CTL secretory lysosomes: biosynthesis and secretion of a harmful organelle. *Seminars in Immunology* **17:**87.

Haddad, E., et al. 1995. Treatment of Chediak-Higashi syndrome by allogeneic bone marrow transplantation: report of 10 cases. *Blood* **11:**3328.

Klenerman, P., et al. 2002. Tracking T cells with tetramers: new tales from new tools. *Nature Reviews Immunology* **2:**263.

Lekstrom-Himes, J. A., and J. I. Gallin. 2000. Advances in immunology: immunodeficiency diseases caused by defects in phagocytes. *New England Journal of Medicine* **343:**1703.

Parham, P. 2005. MHC class I molecules and KIRs in human history: health and survival. *Nature Reviews Immunology* **5:**201.

Rajagopolan, S., and E. Long. 2005. Understanding how combinations of HLA and KIR genes influence diseases. *Journal of Experimental Medicine* **201:**1025.

Russell, J. H., and T. J. Ley. 2002. Lymphocyte-mediated cytotoxicity. *Annual Review of Immunology* **20:**370.

Van Kaer, L., and S. Joyce. 2005. Innate immunity: NKT cells in the spotlight. *Current Biology* **15:**R430.

Waterhouse, N. J., et al. 2004. Cytotoxic lymphocytes: instigators of dramatic target cell death. *Biochemical Pharmacology* **68:**1033.

Sitio útil de la red

http://www.cellsalive.com/ctl.htm

Este subsitio de Cells Alive incluye un video que documenta el tiempo de los linfocitos T citotóxicos (CTL) en actividades de reconocimiento, ataque y destrucción de un blanco infectado por virus de la gripe mucho más grande.

Preguntas de estudio

PREGUNTA DE ENFOQUE CLÍNICO Una combinación heredada de genes para KIR y genes MHC causa mayor susceptibilidad a una forma de artritis. ¿Se esperaría que esto se debiera a aumento o decremento en la inducción de actividad de NK? ¿Podría un aumento en la susceptibilidad a diabetes explicarse recurriendo a la misma lógica? Explique su respuesta.

1. Indique si cada una de las afirmaciones siguientes es verdadera o falsa. Si piensa que una afirmación es falsa, explique por qué.
   a. ¿Qué rama del sistema inmunitario activado puede regular las citocinas?
   b. Tanto los CTL como las células NK liberan perforina después de interactuar con células blanco.
   c. La activación por antígeno de CTL-P vírgenes requiere una señal coestimuladora proporcionada por la interacción de CD28 y B7.
   d. Los CTL utilizan un mecanismo aislado para destruir células blanco.
   e. La secreción de ciertas citocinas críticas es la base de la función de las células T en las reacciones de hipersensibilidad tardía (DTH).

2. Existe un anticuerpo monoclonal específico para LFA-1. Se efectúa una valoración CML de una clona de CTL mediante células blanco para las que es específica la clona, en presencia y ausencia de este anticuerpo. Prediga las cantidades relativas de ^{51}Cr que se liberan en las dos valoraciones. Explique su respuesta.

3. Se cultivan en forma concurrente linfocitos de las cepas indicadas en el cuadro siguiente con el objeto de observar la reacción de linfocitos mixtos (MLR). En cada caso, indique de qué población o poblaciones de linfocitos cabría esperar la proliferación.

Población 1	Población 2	Proliferación
C57BL/6 (H-2^b)	CBA (H-2^k)	
C57BL/6 (H-2^b)	CBA (H-2^k) tratada con mitomicina C	
C57BL/6 (H-2^b)	(CBA × C57BL/6)F_1 (H-$2^{k/b}$)	
C57BL/6 (H-2^b)	C57L (H-2^b)	

4. En la reacción de linfocitos mixtos (MLR) se utiliza con frecuencia la captación de timidina [^{3}H] para valorar la proliferación celular.
   a. ¿Qué tipo de célula prolifera en la MLR?
   b. ¿Cómo puede comprobarse la identidad de las células proliferantes?
   c. Explique por qué puede utilizarse la producción de IL-2 para valorar la proliferación celular en la reacción de linfocitos mixtos.

5. Indique si la célula T_H, el CTL, ambos o ninguno poseen cada una de las propiedades que se indican a continuación.
   a. __________ puede elaborar IFN-γ
   b. __________ puede producir IL-2
   c. __________ se restringe a MHC clase I
   d. __________ expresa CD8
   e. __________ se requiere para activar la célula B
   f. __________ es citotóxico(a) para células blanco
   g. __________ es la principal célula que prolifera en una reacción de linfocitos mixtos
   h. __________ es la célula efectora en una valoración de CML
   i. __________ se restringe a MHC clase II
   j. __________ expresa CD4
   k. __________ expresa CD3
   l. __________ se adhiere a células blanco por LFA-1
   m. __________ puede expresar el receptor IL-2
   n. __________ expresa el receptor de la célula T αβ
   o. __________ es el principal blanco de VIH
   p. __________ sólo responde a antígenos solubles
   q. __________ produce perforina
   r. __________ expresa el ligando CD40 en su superficie

6. Se infectaron ratones de varias cepas endogámicas diferentes con virus del LCM y varios días después se aislaron células de su bazo. Se determinó la capacidad de las células esplénicas cebadas de lisar células blanco marcadas con ^{51}Cr infectadas con LCM de diversas cepas. En el cuadro de la siguiente página indique con (+) o (−) si las células esplénicas indicadas en la columna de la izquierda causarían la liberación de ^{51}Cr de las células blanco indicadas en los encabezados de la parte superior del cuadro.

7. Se infecta a un ratón con virus de la gripe. ¿Cómo podría valorarse si el ratón tiene célula T_H y T_C específicas para gripe?

8. Explique por qué las células NK de un hospedador determinado destruyen muchos tipos de células infectadas por virus, pero no las células normales de ese hospedador.

9. Considere los ratones genéticamente alterados siguientes y prediga el resultado final de los procedimientos indicados. Se inmunizó con virus LCM a ratones H-2^d que presentaban desactivación de los genes de perforina y ligando Fas. Una semana

Origen de células esplénicas cebadas	Liberación de ^{51}Cr de células blanco infectadas con LCM			
	B10.D2 (H-2^d)	**B10 (H-2^b)**	**B10.BR (H-2^k)**	**(BALB/c × B10) F$_1$ (H-2$^{b/d}$)**
B10.D2 (H-2^d)				
B10 (H-2^b)				
BALB/c (H-2^d)				
BALB/c × B10 (H-2$^{b/d}$)				

después de la inmunización se obtuvieron células T de estos ratones y se estudió su citotoxicidad en las siguientes:

a. Células blanco de ratones H-2^b normales infectados con LCM
b. Células blanco de ratones H-2^d normales
c. Células blanco de ratones H-2^d con desactivación de los genes de perforina y Fas
d. Células blanco de ratones H-2^d normales infectados con LCM
e. Células blanco de ratones H-2^d con desactivación de los genes de perforina y FasL

10. Se desea determinar las concentraciones de células T restringidas a clase I en un individuo infectado con VIH que son específicas para un péptido que genera gp120, un componente del virus. Suponga que se conoce el tipo HLA del paciente. ¿Qué método se emplearía y cómo se llevaría a cabo el análisis? Sea tan específico como pueda.

11. Indique si cada uno de los siguientes enunciados acerca de la muerte celular programada mediada por Fas es verdadero o falso. Si considera que un enunciado es falso, explique por qué.

a. A fin de cuentas causa la muerte de la célula.
b. La interacción de ligando Fas y su receptor da por resultado el reclutamiento de proteínas adaptadoras en la célula blanco.
c. La cascada de la caspasa lleva a la escisión de proteínas en la célula blanco.
d. La unión del ligando Fas al receptor de Fas estimula una proteína G específica.
e. La caspasa 8 puede ser activada por FADD o granzimas.
f. El FasL (ligando Fas) se expresa en la célula blanco.

12. Las células NK no expresan moléculas TCR, aunque se unen a moléculas MHC clase I en células blanco potenciales.

a. Explique cómo es que las células NK, que carecen de TCR, pueden reconocer células infectadas.
b. ¿Cuál es el mecanismo usado por las células NK para destruir células blanco?
c. ¿De qué precursor surgen las células NK?

13. La ADCC depende de la producción de anticuerpos para reconocer células blanco. Describa la consecuencia si se formaran anticuerpos contra antígenos expresados en células normales así como en células infectadas.

ANALICE LOS DATOS E. Jäger y colaboradores aislaron un antígeno de un tumor en un paciente con cáncer que expresaba HLA-A2. Para caracterizar la inmunorreacción mediada por células del paciente a este antígeno tumoral, los investigadores generaron una serie de fragmentos peptídicos a partir del antígeno tumoral y pulsaron células T2 con estos péptidos. Después midieron la reacción de los CTL del paciente contra cada uno de esos blancos. Conteste las siguientes preguntas con base en los datos del cuadro de abajo y lo que ha aprendido en este libro.

a. ¿Cuál o cuáles epítopos del antígeno tumoral fueron reconocidos por las células T, según lo determinaron los investigadores? Explique su respuesta.
b. Los inmunólogos han identificado residuos ancla en moléculas HLA-A2 que revisten enorme importancia para la presentación de antígeno. ¿Cuáles aminoácidos es más probable que se unan a residuos ancla de HLA-A2 si estos aminoácidos deben conservarse? Explique su respuesta.
c. Algunos de los péptidos inspeccionados por estos investigadores son débilmente inmunógenos. Una explicación es que péptidos menos inmunógenos pueden unirse a residuos ancla de manera ineficiente. Proponga una hipótesis alterna razonable para explicar por qué algunos de los péptidos son inmunógenos deficientes.
d. Los investigadores pulsaron células T2 con péptidos y usaron CTL de sangre periférica del paciente para realizar ensayos con CTL. ¿Cuál molécula HLA-A2 es expresada por las células T2? Explique su respuesta.
e. ¿En qué sentido el péptido 2 es un epítopo poco común?

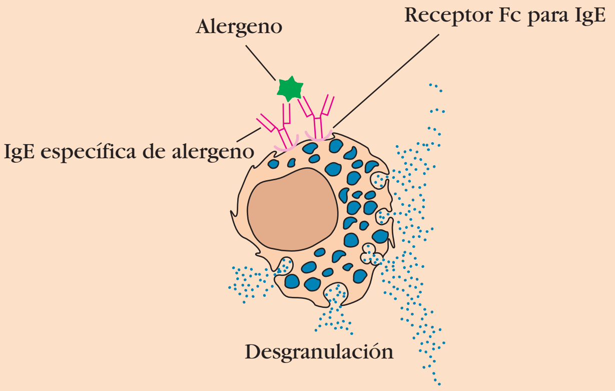
Fragmentos peptídicos obtenidos de antígeno aislado de tumor

Número	Secuencia peptídica	Posición	Lisis específica*
1	SLAQDAPPLPV	108-118	0
2	SLLMWITQCFL	157-167	55
3	QLSISSCLQQL	146-156	1
4	QLQLSISSCL	144-153	1
5	LLMWITQCFL	158-167	15
6	RLTAADHRQL	136-145	5
7	FTVSGNILTI	126-135	1
8	ITQCFLPVFL	162-171	1
9	SLAQDAPPL	108-116	3
10	PLPVPGVLL	115-123	1
11	WITQCFLPV	161-169	5
12	SLLMWITQC	157-165	78
13	RLLEFYLAM	86-94	7
14	SISSCLQQL	148-156	6
15	LMWITQCFL	159-167	4
16	QLQLSISSC	144-152	1
17	CLQQLSLLM	152-160	1
18	QLSLLMWIT	155-163	84
19	NILTIRLTA	131-139	2
20	GVLLKEFTV	120-128	3
21	ILTIRLTAA	132-140	12
22	TVSGNILTI	127-135	4
23	GTGGSTGDA	7-15	9
24	ATPMEAELA	97-105	1
25	FTVSGNILT	126-134	1
26	LTAADHRQL	137-145	9

*La lisis específica es una medida de la actividad lítica.

capítulo 15

Reacciones de hipersensibilidad



Hipersensibilidad mediada por IgE o tipo I.

- Clasificación de Gell y Coombs
- Hipersensibilidad mediada por IgE (tipo I)
- Hipersensibilidad citotóxica mediada por anticuerpo (tipo II)
- Hipersensibilidad mediada por inmunocomplejos (tipo III)
- Hipersensibilidad tipo IV o tardía (DTH)

Una reacción inmunitaria moviliza una batería de moléculas efectoras que tienen como finalidad remover el antígeno mediante los diversos mecanismos descritos en los capítulos anteriores. En general estas moléculas efectoras inducen una reacción inflamatoria localizada que elimina el antígeno sin lesionar de manera extensa los tejidos del hospedador. Sin embargo, bajo ciertas circunstancias esta reacción inflamatoria puede tener efectos nocivos y producir lesión tisular grave e incluso la muerte. Esta reacción inmunitaria inapropiada se denomina **hipersensibilidad**. Aunque la palabra *hipersensibilidad* implica una reacción incrementada, la respuesta no siempre lo está y más bien puede tratarse de una inmunorreacción inapropiada a un antígeno.

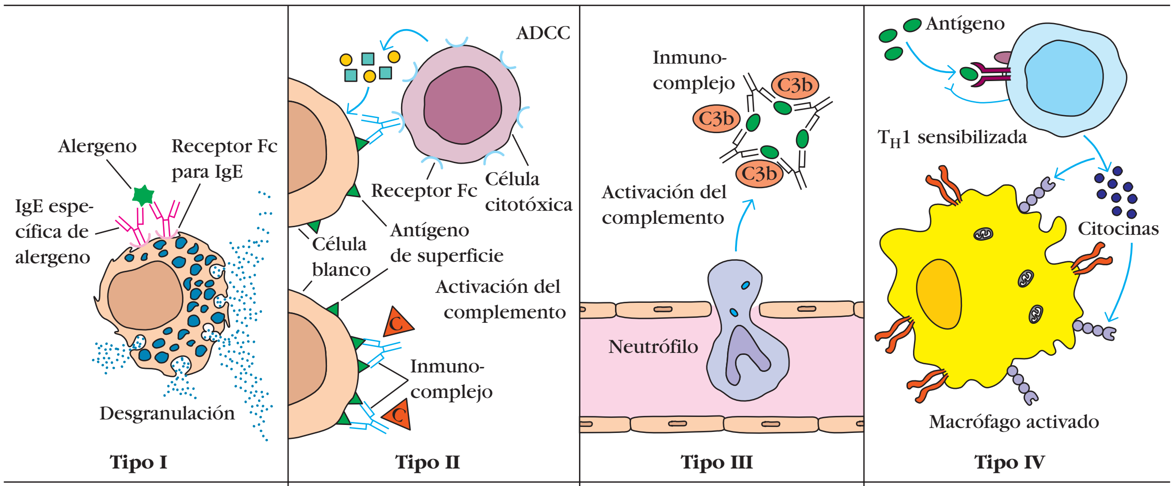
La posibilidad de que el sistema inmunitario reaccione de manera inapropiada al contacto con antígeno se reconoció a principios del siglo XX. Dos científicos franceses, Paul Portier y Charles Richet, investigaban el problema de los bañistas del Mediterráneo que reaccionaban violentamente a las picaduras de la medusa denominada fragata portuguesa. Portier y Richet concluyeron que la reacción localizada de los bañistas se debía a toxinas. Para contrarrestarla, experimentaron con el uso de las toxinas aisladas de las medusas como vacunas. Sus primeros intentos tuvieron resultados desastrosos. Portier y Richet inyectaron toxinas purificadas a perros y luego les administraron dosis de refuerzo. En vez de reaccionar a estos refuerzos con producción de anticuerpos contra las toxinas, los animales desarrollaron de inmediato vómito, diarrea y asfixia, y finalmente murieron. Sin duda se trataba de casos en que los animales "sobrerreaccionaban" al antígeno. Estos investigadores idearon el término *anafilaxis*, traducción laxa del griego para indicar lo contrario a *profilaxis*, con objeto de describir esta clase de reacción excesiva. Richet recibió después el premio Nobel de Fisiología o Medicina en 1913 por el descubrimiento de la anafilaxis.

En el transcurso de una reacción inmunitaria humoral o una mediada por células pueden presentarse reacciones de hipersensibilidad. Las reacciones anafilácticas iniciadas por anticuerpo o por complejos antígeno-anticuerpo se denominan **hipersensibilidad inmediata** porque los síntomas se manifiestan en minutos u horas después que el receptor sensibilizado hace contacto con el antígeno. La **hipersensibilidad tardía (DTH)** se denomina así para reconocer el retraso de los síntomas hasta días después de la exposición. En este capítulo se examinan los mecanismos y las consecuencias de los cuatro tipos primarios de reacciones de hipersensibilidad.

Clasificación de Gell y Coombs

Las reacciones de hipersensibilidad pueden distinguirse por el tipo de inmunorreacción y por diferencias en las moléculas efectoras generadas durante la evolución del fenómeno. En las reacciones de hipersensibilidad inmediata, diferentes isotipos de anticuerpos inducen moléculas efectoras de inmunidad específicas. Los anticuerpos IgE, por ejemplo, promueven la desgranulación de los mastocitos (también llamados células cebadas) con liberación de histamina y otras moléculas con actividad biológica. En contraste, los anticuerpos IgG e IgM inducen reacciones de hipersensibilidad al activar el complemento. Las moléculas efectoras que participan en las reacciones de complemento son el complejo de ataque a membrana y los productos del desdoblamiento del complemento C3a y C5a. Las moléculas efectoras de las reacciones de hipersensibilidad tardía son diversas citocinas que las células T_H o T_C activadas secretan.

FIGURA 15-1 VISUALIZACIÓN DE CONCEPTOS: Los cuatro tipos de reacciones de hipersensibilidad



Tipo I	Tipo II	Tipo III	Tipo IV
Hipersensibilidad mediada por IgE	Hipersensibilidad citotóxica mediada por IgG o IgM	Hipersensibilidad mediada por inmunocomplejos	Hipersensibilidad mediada por células
El Ag induce el enlace cruzado de la IgE fija en mastocitos y basófilos con liberación de mediadores vasoactivos	El Ab dirigido contra antígenos de superficie celular media la destrucción celular por activación del complemento o ADCC	Los complejos Ag-Ab que se depositan en diversos tejidos inducen activación del complemento y reacción inflamatoria subsecuente mediada por infiltración masiva de neutrófilos	Las células T_H1 sensibilizadas que se muestran arriba liberan citocinas que activan macrófagos o células T_C que median la lesión celular directa. Las células T_H2 y los CTL median reacciones similares
Las manifestaciones típicas incluyen anafilaxis sistémica y anafilaxis localizada como fiebre del heno, asma, ronchas, alergias alimentarias y eccema	Las manifestaciones típicas comprenden reacciones transfusionales, eritroblastosis fetal y anemia hemolítica autoinmunitaria	Las manifestaciones típicas abarcan reacción localizada de Arthus y reacciones generalizadas como enfermedad del suero, vasculitis necrosante, glomerulonefritis, artritis reumatoide y lupus eritematoso diseminado	Las manifestaciones típicas incluyen dermatitis por contacto, reacciones tuberculares y rechazo de injerto

Cuando quedó claro que diferentes mecanismos inmunitarios originan las reacciones de hipersensibilidad, P. G. H. Gell y R. R. A. Coombs propusieron un esquema de clasificación de las reacciones de hipersensibilidad en cuatro tipos. Tres de ellos se producen dentro de la rama humoral y son mediados por anticuerpo o por complejos antígeno-anticuerpo: mediadas por IgE (tipo I), mediadas por anticuerpo (tipo II) y mediadas por inmunocomplejos (tipo III). Un cuarto tipo de hipersensibilidad depende de las reacciones que ocurren dentro de la rama mediada por células y se denomina hipersensibilidad tardía o DTH (tipo IV). En cada tipo participan diferentes mecanismos, células y moléculas mediadoras (fig. 15-1). El esquema de clasificación de Gell y Coombs ha cumplido una función importante para identificar las diferencias en los mecanismos inmunitarios patógenos y el daño tisular característico de las diversas reacciones de hipersensibilidad. Sin embargo, es importante señalar que la compleja combinación de inmunorreacciones humorales y mediadas por células y mecanismos efectores que a menudo están presentes en trastornos de hipersensibilidad clínica difuminan los límites entre las cuatro categorías.

Hipersensibilidad mediada por IgE (tipo I)

Ciertas clases de antígenos conocidos como **alergenos** inducen una reacción de hipersensibilidad tipo I y este fenómeno manifiesta todas las características de una reacción humoral normal. Esto es, el alergeno promueve una reacción humoral de anticuerpo por los mismos mecanismos que los descritos en el capítulo 11 para otros antígenos solubles, lo que resulta en la generación de células plasmáticas y células de memoria secretoras de anticuerpo. Lo que distingue una reacción de hipersensibilidad tipo I de una reacción humoral normal es que las células plasmáticas secretan IgE (cap. 4) en respuesta a la activación de

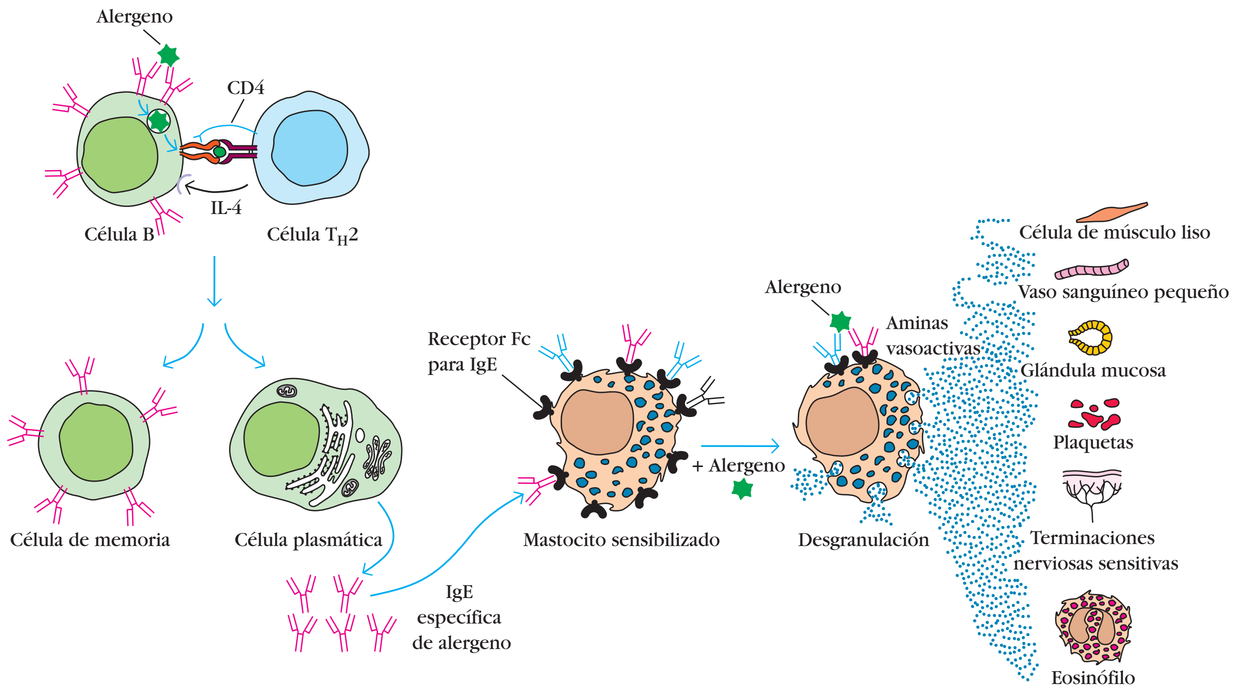


FIGURA 15-2 Mecanismo general subyacente a una reacción de hipersensibilidad tipo I. La exposición a un alergeno activa las células T_H2 que estimulan las células B para que formen células plasmáticas secretoras de IgE. Las moléculas de IgE secretadas se fijan a receptores Fc específicos de IgE (FcεRI) sobre los mastocitos y los basófilos sanguíneos. (Muchas moléculas de IgE con especificidades diversas pueden fijarse al FcεRI.) La segunda exposición al alergeno produce enlace cruzado de la IgE fija, lo que desencadena la liberación de mediadores con actividad farmacológica (aminas vasoactivas) de mastocitos y basófilos. Los mediadores producen contracción del músculo liso, aumento de la permeabilidad vascular y vasodilatación.

células T_H2 específicas de alergeno. El anticuerpo de esta clase se fija con gran afinidad a los **receptores Fc** sobre la superficie de los mastocitos tisulares y los basófilos sanguíneos; se dice que los mastocitos y basófilos cubiertos por IgE están sensibilizados. La exposición ulterior al mismo alergeno enlaza de manera cruzada la IgE de membrana de los mastocitos y los basófilos, lo que produce **desgranulación** de estas células (fig. 15-2). Los mediadores con actividad farmacológica que se liberan de los gránulos actúan sobre los tejidos circundantes. Los efectos principales —vasodilatación y contracción del músculo liso— pueden ser generales o localizados según la magnitud de la liberación de mediadores. En la actualidad, el término **alergia** se usa de manera indistinta con el de hipersensibilidad tipo I.

Existen varios componentes comunes de las reacciones tipo I

La figura 15-2 ilustra los componentes generales de importancia crítica para el desarrollo de las reacciones de hipersensibilidad tipo I. En esta sección se consideran primero estos componentes comunes, y en secciones posteriores se describen el mecanismo de la desgranulación, los mediadores con actividad biológica, las manifestaciones clínicas y los enfoques terapéuticos en las reacciones tipo I.

Alergenos

La mayoría de los seres humanos produce reacciones de IgE importantes sólo como defensa contra las infecciones parasitarias. Después que un individuo se expone a un parásito, sus concentraciones séricas de IgE aumentan y se mantienen elevadas hasta que el parásito se elimina de manera definitiva del cuerpo. No obstante, algunas personas pueden experimentar una anormalidad llamada **atopia**, una predisposición hereditaria al desarrollo de reacciones de hipersensibilidad inmediatas contra antígenos ambientales ordinarios. Los defectos de la regulación de la IgE que los individuos atópicos sufren permiten a los antígenos no parasitarios estimular la producción inapropiada de IgE, lo que ocasiona hipersensibilidad tipo I que daña los tejidos. El término *alergeno* se refiere de manera específica a los antígenos no parasitarios capaces de estimular las reacciones de hipersensibilidad tipo I en los sujetos alérgicos en una segunda exposición.

La reacción anormal de IgE de las personas atópicas es, al menos en parte, genética, pues a menudo se observa en familias. Los individuos atópicos tienen concentraciones anormalmente elevadas de IgE circulante y números más grandes que los normales de eosinófilos circulantes. Estos sujetos son más susceptibles a alergias como la fiebre del heno, el eccema y el asma. La propensión genética a las reacciones atópicas se rastreó hasta diversos loci candidatos por medio de análisis de ligadura. Un locus, situado en el cromosoma 5, está ligado a una región que codifica diversas citocinas, entre otras IL-3, IL-4, IL-5, IL-9, IL-13 y factor estimulante de colonias de granulocitos y monocitos (GM-CSF), todos los cuales promueven la producción de IgE. Un segundo locus, en el cromosoma 11, está ligado a una región que codifica la cadena β del receptor de IgE de alta afinidad. Las respuestas de IgE también se han vinculado con genes MHC en

CUADRO 15-1 Alergenos frecuentes relacionados con la hipersensibilidad tipo I

- Proteínas
  - Suero extraño
  - Vacunas
- Pólenes
  - Centeno
  - Ambrosía
  - Gramíneas del género *Phleum*
  - Abedules
- Fármacos
  - Penicilina
  - Sulfonamidas
  - Anestésicos locales
  - Salicilatos
- Alimentos
  - Nueces
  - Pescados y mariscos
  - Huevos
  - Guisantes, frijoles
  - Leche
- Productos de los insectos
  - Veneno de abeja
  - Veneno de avispa
  - Veneno de hormiga
  - Cáliz de cucaracha
  - Ácaros del polvo
- Esporas del moho
- Pelo y caspa de animales
- Látex

el cromosoma 6. Se sabe que la atopia hereditaria es multigénica y que es probable que otros loci participen en ella. De hecho, es probable que surjan otros genes candidatos conforme la información obtenida por el Proyecto Genoma Humano se analice.

La mayor parte de las reacciones alérgicas de IgE se produce sobre las superficies mucosas en respuesta a los alergenos que entran en el cuerpo por inhalación o ingestión. Pocos de los alergenos frecuentes que se enumeran en el cuadro 15-1 han sido aislados y caracterizados; entre ellos se encuentran los alergenos de polen de centeno, polen de ambrosía, bacalao, polen de abedul, polen de la gramínea *Phleum*, veneno de abeja y látex. (En años recientes ha aumentado la hipersensibilidad a alergenos del látex entre prestadores de servicios de salud, y es un ejemplo de alergia ocupacional.) Está demostrado que cada uno de estos alergenos es un sistema multiantigénico que contiene diversos componentes alergénicos. Un ejemplo clásico es el polen de la ambrosía, un alergeno de primera importancia en Estados Unidos. Se informa que 1 km^2 de ambrosía produce cerca de 15 toneladas de polen en una sola estación. De hecho, todas las regiones de Estados Unidos están invadidas tanto por el polen de la ambrosía como por el polen de tres árboles autóctonos. Las partículas de polen se inhalan y su pared exterior resistente se disuelve bajo la acción de las enzimas contenidas en las secreciones mucosas, con liberación de las sustancias alergénicas. El fraccionamiento químico de la ambrosía revela diversas sustancias, en su mayor parte no alergénicas pero capaces de desencadenar una reacción de IgM o IgG. De las cinco fracciones que son alergénicas (es decir, capaces de desencadenar una reacción de IgE), dos desencadenan reacciones alergénicas en cerca de 95% de los sujetos sensibles a la ambrosía; se denominan alergenos mayores y se designan como fracciones E y K. Las otras tres, Ra3, Ra4 y Ra5, son alergenos menores que inducen una reacción alérgica en sólo 20 a 30% de los individuos sensibles.

¿Por qué algunos alergenos (p. ej., el polen de la ambrosía) inducen potentes reacciones de T_H2 y reacciones alérgicas, pero no así otros alergenos igualmente abundantes (como el polen de la ortiga)? Al parecer no existe una propiedad fisicoquímica única que permita distinguir entre las fracciones altamente alergénicas E y K de la ambrosía, las fracciones menos alergénicas Ra3, Ra4 y Ra5, y las que no lo son. Más bien, al parecer los alergenos poseen diversas propiedades como grupo. Algunos de ellos, como los sueros extraños y la albúmina de huevo, son antígenos potentes. Otros, como los pólenes de las plantas, son débiles. Aunque casi todos los alergenos son proteínas pequeñas o sustancias fijas a proteínas que tienen peso molecular de 15 000 a 40 000, los intentos por identificar alguna propiedad química en común de estos antígenos han fracasado. Parece que la alergenicidad es consecuencia de una serie compleja de interacciones que comprenden no sólo al propio alergeno sino también otros aspectos como dosis, vías de sensibilización, coadyuvantes ocasionales y, lo que es más importante, la constitución genética del receptor.

Anticuerpo reagínico (IgE)

Como se describió en el capítulo 4, K. Prausnitz y H. Kustner demostraron por primera vez en 1921 la existencia de un factor sérico humano que reacciona con los alergenos. Estos investigadores inyectaron por vía intradérmica suero de un individuo alérgico a un testigo no alérgico. Una reacción posterior del alergeno en el mismo sitio causó enrojecimiento y tumefacción locales. Aunque la especificidad de esta reacción (llamada reacción P-K) para un alergeno dado condujo a la hipótesis de que anticuerpos reagínicos o "fijadores a la piel" causaban la reacción, ello no se demostró sino hasta que se reveló la existencia de la clase de anticuerpo responsable de las reacciones alérgicas. Experimentos efectuados por K. y T. Ishizaka a mediados del decenio de 1960 mostraron que la actividad biológica del anticuerpo reagínico en una prueba P-K podía neutralizarse mediante antisuero de conejo contra sueros humanos atópicos enteros, pero no con antisuero de conejo específico para las cuatro clases de inmunoglobulinas humanas que se conocían en esa época (IgA, IgG, IgM e IgD) (cuadro 15-2). Además, cuando se inmunizaron conejos con sueros de individuos sensibles a la ambrosía, los antisueros de estos animales pudieron inhibir (neutralizar) la prueba P-K de la ambrosía positiva incluso después de la precipitación de los anticuerpos de conejo específicos para los isotipos IgG, IgA, IgM e IgD humanos. Los Ishizaka denominaron IgE a este nuevo isotipo en alusión al antígeno E de la ambrosía que emplearon para caracterizarlo.

En individuos normales, la concentración sérica de IgE es la más baja de todas las clases de anticuerpo, en el intervalo de 0.1 a 0.4 μg/ml; los individuos atópicos a menudo tienen 10 veces la concentración normal de IgE en su circulación. Los bajos valores séricos de IgE dificultan los estudios fisioquímicos de esta inmunoglobulina; no fue sino hasta el descubrimiento de un mieloma de IgE efectuado por S. G. O. Johansson y H. Bennich en 1967 cuando pudo realizarse el análisis químico extenso de esta inmunoglobulina. Se encontró que está compuesta por dos cadenas pesadas ε y dos cadenas ligeras con peso molecular combinado de 190 000. Este peso molecular más elevado en comparación con el de la IgG (150 000) se debe a la presencia de un dominio de región constante adicional (fig. 4-13). Este dominio adicional ($C_\varepsilon 2$), que sustituye la región de bisagra de la IgG, contribuye a la configuración alterada de la porción Fc de la molécula que le permite fijarse a receptores glucoproteínicos sobre la superficie de basófilos y mastocitos. La IgE de sujetos alérgicos difiere de la de otros isotipos de anticuerpo en la selección limitada de genes V_H que contribuyen a su región variable

CUADRO 15-2 Identificación de la IgE con base en la reactividad del suero atópico en la reacción P-K

Suero	Tratamiento	Alergeno añadido	Reacción P-K en el sitio cutáneo
Atópico	Ninguno	−	−
Atópico	Ninguno	+	+
No atópico	Ninguno	+	−
Atópico	Antisuero de conejo contra el suero atópico humano*	+	−
Atópico	Antisuero de conejo contra IgM, IgG, IgA e IgD†	+	+

*Se inyectó suero de un individuo atópico a conejos para que produjeran antisuero contra el suero atópico humano. Cuando este antisuero se hizo reaccionar con suero atópico humano, neutralizó la reacción P-K.

†Se hizo reaccionar el suero de un individuo atópico con antisuero de conejo contra las clases conocidas de anticuerpos humanos (IgM, IgA, IgG e IgD) para eliminar estos isotipos del suero atópico. El suero atópico tratado siguió produciendo una reacción P-K positiva, lo que indica que el causante de esta reactividad era una nueva inmunoglobulina isotípica.

FUENTE: Basado en K. Ishizaka y T. Ishizaka, 1967. *Journal of Immunology* **99:**1187.

y el patrón de hipermutación somática en sus cadenas pesadas ε. Muy probablemente, el repertorio inusual de estas moléculas IgE es seleccionado por las propiedades complejas del alergeno. Aunque la vida media de la IgE en el suero es apenas de dos a tres días, una vez que esta inmunoglobulina se fija a su receptor en mastocitos y basófilos se mantiene estable en ese estado durante varias semanas. La persistencia de IgE en la superficie del mastocito puede atribuirse a la producción local de IgE en el tejido mucoso en caso de enfermedad alérgica y a la fuerte unión de la IgE con su receptor.

Mastocitos y basófilos

Las células que fijan IgE se identificaron incubando leucocitos y células tisulares del ser humano con proteína del mieloma de IgE marcada con ^{125}I o anti-IgE marcada con este mismo isótopo. En ambos casos, la autorradiografía reveló que la sonda marcada se fija con gran afinidad a los basófilos sanguíneos y los mastocitos tisulares. Los basófilos son granulocitos que circulan en la sangre de la mayor parte de los vertebrados; en el ser humano constituyen una proporción de 0.5 a 1.0% de los leucocitos circulantes. En contraste con los mastocitos tisulares, los basófilos circulantes deben ser reclutados en los tejidos en los sitios de inflamación. Su citoplasma granuloso se tiñe con colorantes básicos, de ahí el nombre de basófilos. La microscopia electrónica evidencia un núcleo multilobulado, pocas mitocondrias, numerosos gránulos de glucógeno y gránulos electrodensos fijos a membrana diseminados por todo el citoplasma que contienen mediadores con actividad farmacológica (fig. 2-9c).

Los precursores de los mastocitos se forman en la médula ósea durante la hematopoyesis y se transportan a casi todos los tejidos periféricos vascularizados, donde se diferencian en células maduras. Se encuentran en todo el tejido conjuntivo, en particular cerca de los vasos sanguíneos y linfáticos y los nervios. Algunos tejidos, como la piel y las mucosas superficiales de las vías respiratorias y digestivas, contienen altas concentraciones de mastocitos; por ejemplo, la piel alberga 10 000 de estas células en cada milímetro cúbico. Las micrografías electrónicas de mastocitos revelan numerosos gránulos fijos a membrana distribuidos por todo el citoplasma que, como los basófilos, contienen mediadores con actividad farmacológica (fig. 15-3). Tras la activación estos mediadores se liberan desde los gránulos y producen las manifestaciones clínicas de la reacción de hipersensibilidad tipo I.

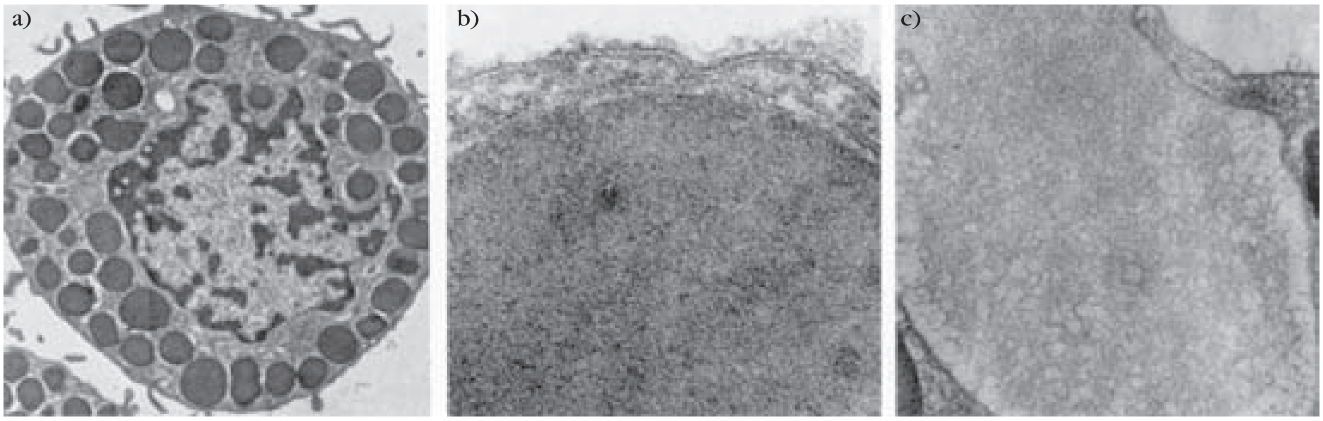


FIGURA 15-3 Mastocito. a) Micrografía electrónica de un mastocito típico que revela numerosos gránulos electrodensos fijos a la membrana antes de la desgranulación. b) Acercamiento de un gránulo intacto situado por debajo de la membrana plasmática de un mastocito. c) Gránulo liberando su contenido (hacia arriba a la izquierda) durante la desgranulación. *[Tomada de S. Burwen y B. Satir, 1977,* Journal of Cell Biology ***73:****662.]*

Las poblaciones de mastocitos en los distintos sitios anatómicos difieren mucho en cuanto a tipos y cantidades de mediadores alérgicos que contienen y sensibilidad a los estímulos activadores y las citocinas. La capacidad de las células cebadas de adoptar diversos fenotipos en respuesta a su microambiente se denomina heterogeneidad de los mastocitos. También secretan gran variedad de citocinas que afectan un amplio espectro de procesos fisiológicos, inmunitarios y patológicos (cuadro 12-1).

Receptores Fc fijadores de IgE

La actividad reagínica de la IgE depende de su capacidad de fijarse a un receptor específico para la región Fc de la cadena pesada ε. Se identifican dos clases de FcεR, designados FcεRI y FcεRII, qué tipos de células distintos expresan y cuya afinidad por la IgE difiere en 1 000 veces.

Receptor de alta afinidad (FCεRI) Los mastocitos y los basófilos expresan FcεRI, que fija la IgE con afinidad alta (K_d = 1-2 × 10^{-9} M). La elevada afinidad de este receptor le permite fijar la IgE a pesar de la concentración sérica baja de ésta (1 × 10^{-7} M). El número de moléculas de FcεRI en los basófilos humanos es muy alto, de 40 000 a 90 000. Se ha demostrado que varios otros tipos celulares expresan FcεRI, como eosinófilos, células de Langerhans, monocitos y plaquetas, aunque en concentraciones mucho menores.

En células cebadas y basófilos, el receptor FcεRI contiene cuatro cadenas polipeptídicas: una α, una β y dos γ idénticas unidas por enlaces disulfuro (fig. 15-4a). En monocitos y plaquetas se encuentra otra forma del receptor, que carece de la cadena β. La región externa de la cadena α contiene dos dominios de 90 aminoácidos que son homólogos con la estructura del pliegue de la inmunoglobulina, lo que coloca la molécula en la superfamilia de las inmunoglobulinas (fig. 4-23). Un FcεRI interactúa con ambos dominios C_H3 de una molécula de IgE por medio de dos dominios tipo Ig de la cadena α del receptor. Esta interacción se determinó al dilucidar la estructura cristalina de la cadena α de FcεRI unido al Fc de IgE. Estudios adicionales indican que los dominios C_H2 de la IgE podrían ayudar a estabilizar la interacción con FcεRI, ya sea de manera directa o indirecta. La cadena β atraviesa la membrana plasmática cuatro veces, y se piensa que enlaza la cadena α con el homodímero γ. Las cadenas γ unidas por enlaces disulfuro se extienden una distancia considerable en el citoplasma y son las principales responsables de la transducción de señales intracelulares. Cada cadena β y γ tiene una secuencia conservada en su dominio citosólico que se conoce como motivo de activación de inmunorreceptor basado en tirosina (ITAM). La cadena β contribuye a la formación del complejo de señalización; la cadena γ es homóloga de las cadenas ξ del complejo receptor de célula T (fig. 10-11) y las cadenas Ig-α/Ig-β relacionadas con la inmunoglobulina de membrana en las células B (fig. 11-7). El ITAM de estos receptores interactúa con tirosincinasas de proteína para transducir una señal activadora a la célula. El enlace cruzado de la IgE fija mediado por alergeno resulta en agregación de los receptores FcεRI y

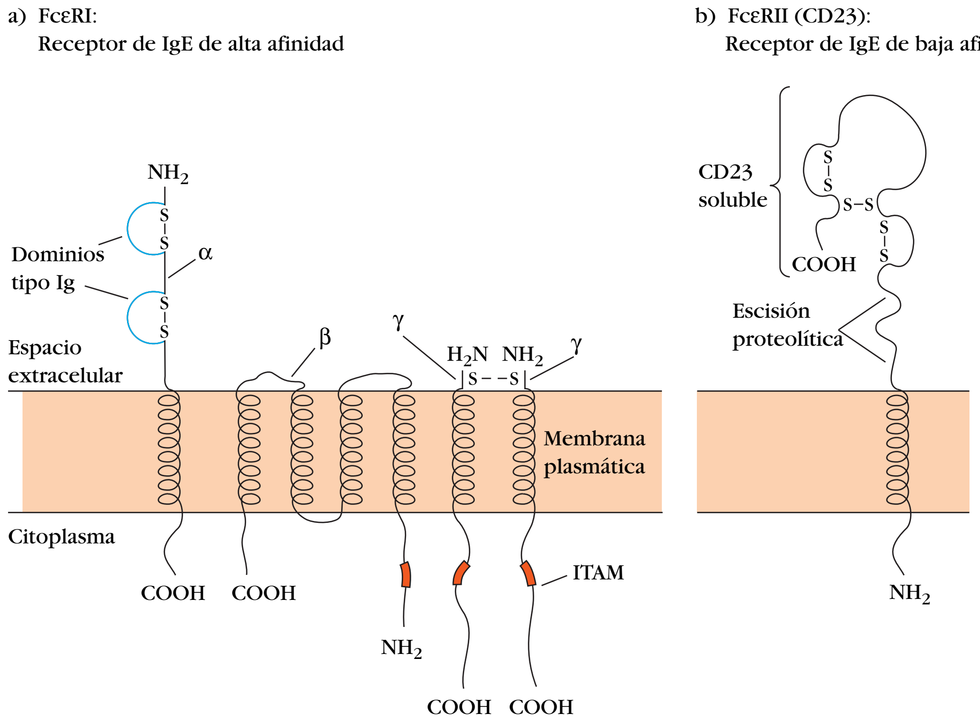


FIGURA 15-4 Esquemas de los receptores FcεRI de alta afinidad y FcεRII de baja afinidad que se fijan a la región Fc de la IgE. a) FcεRI consta de una cadena α que se une a IgE, una cadena β que participa en la señalización, y dos cadenas γ con enlaces disulfuro las cuales son el componente más importante en la transducción de señales. Las cadenas β y γ contienen un ITAM citoplásmico, que se encuentra también en el heterodímero Ig-α/Ig-β del receptor de célula B y en el complejo receptor de célula T. b) El FcεRII es inusual porque está orientado en la membrana con su extremo NH_2 terminal hacia el interior de la célula y su extremo COOH terminal hacia el espacio extracelular.

fosforilación rápida de la tirosina, lo que inicia el proceso de desgranulación del mastocito. La función del receptor FcεRI en la anafilaxis se confirmó en experimentos con ratones que carecen de una cadena α del FcεRI. Estos ratones tienen concentraciones normales de mastocitos pero son resistentes a la anafilaxis localizada y sistémica.

Receptor de baja afinidad (FcεRII) El otro receptor de IgE, designado FcεRII (o CD23), es específico para el dominio C_H3 de la IgE y tiene menor afinidad por ésta ($K_d = 1 \times 10^{-6}$ M) que el receptor FcεRI (fig. 15-4b). CD23 tiene una región de un paso por membrana seguida por un dominio extracelular de lectina tipo C, y carece de relación estructural con FcεRI. Se han identificado dos isoformas de CD23, que difieren sólo ligeramente en el dominio citoplásmico N terminal: CD23a se encuentra en células B activadas, mientras que CD23 es inducido en diversos tipos celulares por la citocina IL-4. Al parecer CD23 tiene diversas funciones en la regulación de la intensidad de la respuesta de IgE. Está demostrado que el enlace cruzado con alergeno de la IgE fija a FcεRII activa células B, macrófagos alveolares y eosinófilos. La secreción de IgE por las células B disminuye cuando este receptor se bloquea con anticuerpos monoclonales. Se sabe que una forma soluble de FcεRII (o sCD23), que se genera por autoproteólisis del receptor de membrana, incrementa la producción de IgE por las células B. Es interesante el hecho de que los sujetos atópicos tienen concentraciones más elevadas de CD23 en sus linfocitos y macrófagos, y concentraciones también más altas de sCD23 en el suero que los sujetos no atópicos.

El enlace cruzado de IgE inicia la desgranulación

Los sucesos bioquímicos que median la desgranulación de los mastocitos y los basófilos sanguíneos comparten muchas características. Con fines de simplicidad, en esta sección se presenta un panorama general de los mecanismos de desgranulación de los mastocitos sin especificar las diferencias ligeras entre éstos y los basófilos. Aunque la desgranulación del mastocito suele iniciar con el enlace cruzado entre alergeno e IgE fija, otros estímulos diversos pueden comenzar este proceso, como anafilatoxinas (C3a y C5a), diversos fármacos e incluso otros receptores de mastocito. En esta sección se estudian los sucesos bioquímicos que siguen al enlace cruzado con alergeno de IgE fija.

La desgranulación mediada por IgE empieza cuando un alergeno se enlaza de manera cruzada con la inmunoglobulina que se encuentra fija al receptor Fc sobre la superficie de un mastocito o un basófilo. Por sí misma, la fijación de la IgE al FcεRI no parece tener efecto sobre la célula blanco. Es sólo después de que ocurren otros enlaces cruzados entre alergeno y complejo IgE fija-receptor cuando se produce la desgranulación. La importancia del enlace cruzado está indicada por el descubrimiento de que los alergenos monovalentes, que no pueden enlazar la IgE fija, tampoco son capaces de desencadenar la desgranulación.

Los experimentos revelan que la etapa esencial de la desgranulación es el enlace cruzado de dos o más moléculas de FcεRI, con IgE fija o sin ella. Aunque en condiciones normales el enlace cruzado ocurre por la interacción de IgE fija con un alergeno divalente o multivalente, también puede lograrse por diversos medios experimentales que obvian la necesidad de alergeno y en algunos casos inclusive de IgE (fig. 15-5).

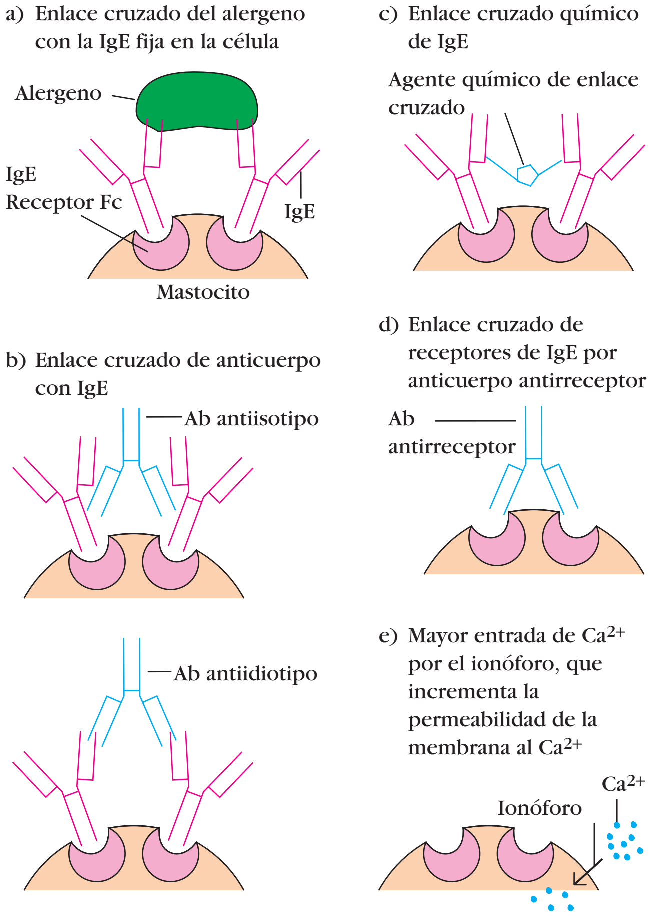

a) Enlace cruzado del alergeno con la IgE fija en la célula
Alergeno
IgE
Receptor Fc
IgE
Mastocito
b) Enlace cruzado de anticuerpo con IgE
Ab antiisotipo
Ab antiidiotipo
c) Enlace cruzado químico de IgE
Agente químico de enlace cruzado
d) Enlace cruzado de receptores de IgE por anticuerpo antirreceptor
Ab antirreceptor
e) Mayor entrada de Ca^{2+} por el ionóforo, que incrementa la permeabilidad de la membrana al Ca^{2+}
Ca^{2+}
Ionóforo

FIGURA 15-5 Esquemas de los mecanismos que pueden desencadenar la desgranulación de los mastocitos. Obsérvese que los mecanismos b) y c) no requieren alergeno, los mecanismos d) y e) no necesitan alergeno ni IgE, y el mecanismo e) no necesita incluso enlace cruzado del receptor.

Sucesos intracelulares inducen la desgranulación de los leucocitos

Los procesos de señalización intracelular que en última instancia causan la desgranulación de los mastocitos son polifacéticos, e implican la cooperación entre diversas fosfatasas y cinasas de proteína y de lípido así como reordenamientos del citosqueleto. La tirosincinasa de proteína de la familia Src denominada Lyn se une al dominio citoplásmico de la cadena β del FcεRI en los mastocitos independientemente del enlace cruzado del receptor. El enlace cruzado de FcεRI activa Lyn, que fosforila las tirosinas dentro de los ITAM de las cadenas β y γ, con lo que se inicia una compleja serie de reacciones de fosforilación adicionales en las que participan las tirosincinasas Lyn, Syk y Fyn y que incluyen la fosforilación de la fosfolipasa C (PLC). Esos sucesos de fosforilación inducen la producción de varios segundos mensajeros, entre ellos 1,4,5-trifosfato de inositol (IP_3) y diacilglicerol

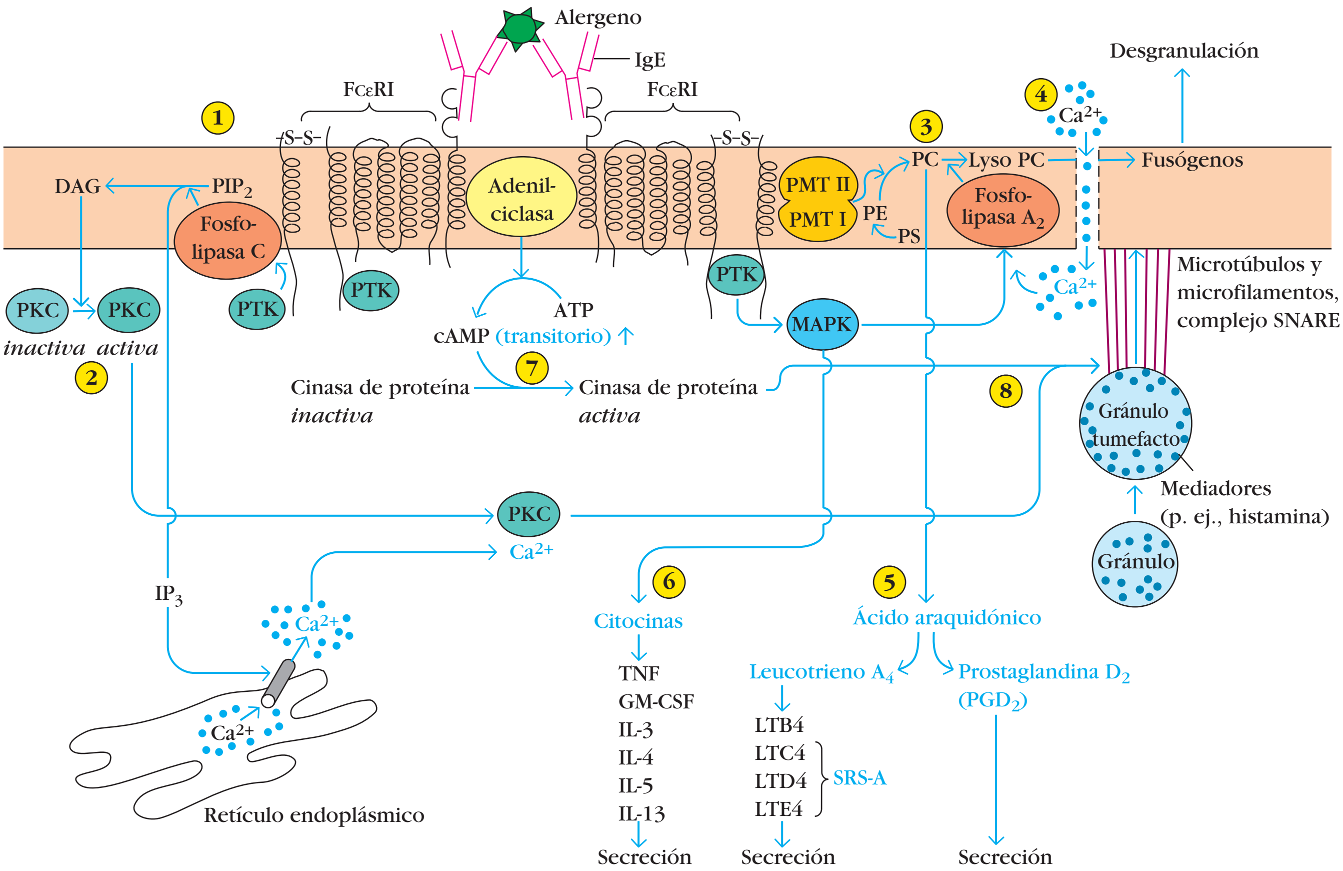

Alergeno
IgE
FcεRI
FcεRI
Desgranulación
①
④
Ca2+
③
–S–S–
–S–S–
DAG
PIP2
Fosfolipasa C
Adenilciclasa
PMT II
PMT I
PE
PS
PC
Lyso PC
Fosfolipasa A2
Fusógenos
PKC
PKC
inactiva
activa
②
PTK
PTK
PTK
ATP
cAMP (transitorio) ↑
MAPK
Ca2+
Microtúbulos y microfilamentos, complejo SNARE
⑦
Cinasa de proteína inactiva
Cinasa de proteína activa
⑧
Gránulo tumefacto
Mediadores (p. ej., histamina)
Gránulo
PKC
Ca2+
IP3
Ca2+
Ca2+
⑥
⑤
Citocinas
Ácido araquidónico
TNF
GM-CSF
IL-3
IL-4
IL-5
IL-13
Secreción
Leucotrieno A4
LTB4
LTC4
LTD4
LTE4
SRS-A
Secreción
Prostaglandina D2 (PGD2)
Secreción
Retículo endoplásmico

FIGURA 15-6 Diagrama general de los sucesos bioquímicos en la activación y la desgranulación del mastocito. El enlace cruzado del alergeno y la IgE fija resulta en agregación de FcεRI y activación de la cinasa de proteínas de tirosina (PTK). 1) A continuación la PTK fosforila la fosfolipasa C, que convierte el 4,5-bisfosfato de fosfatidilinositol (PIP_2) en diacilglicerol (DAG) y trifosfato de inositol (IP_3). 2) El DAG activa la cinasa C de proteínas (PKC), que con el Ca^{2+} es indispensable para el ensamblaje microtubular y la fusión de los gránulos con la membrana plasmática. El IP_3 es un movilizador potente de las reservas intracelulares de Ca^{2+}. 3) El enlace cruzado de FcεRI activa además una enzima que convierte la fosfatidilserina (PS) en fosfatidiletanolamina (PE). Por último la PE se metila para formar fosfatidilcolina (PC) por acción de las enzimas metiltransferasas I y II de los fosfolípidos (PMT I y II). 4) La acumulación de PC sobre la superficie exterior de la membrana plasmática aumenta la fluidez de ésta y facilita la formación de canales de Ca^{2+}. La entrada resultante de Ca^{2+} activa la fosfolipasa A_2, que promueve el desdoblamiento de la PC en lisofosfatidilcolina (lyso PC) y ácido araquidónico. 5) El ácido araquidónico se convierte en mediadores potentes: los leucotrienos y la prostaglandina D_2. 6) La MAPK activada también induce la secreción de citocinas por aumento en la transcripción de genes de citocina. 7) El enlace cruzado de FcεRI activa también la adenilciclasa de la membrana, lo que produce aumento transitorio del cAMP en 15 s. La disminución ulterior de las concentraciones de cAMP es mediada por cinasa de proteína y es necesaria para que la desgranulación ocurra. 8) Se cree que las cinasas de proteína dependientes de cAMP fosforilan las proteínas de los gránulos membranal y que de esta manera cambian la permeabilidad de los gránulos al agua y el Ca^{2+}. El abultamiento subsecuente de los gránulos y la formación de complejos de proteína receptora de unión a N-etilmaleimida (SNARE) facilita la fusión con la membrana plasmática y la liberación de los mediadores.

(DAG), que median el proceso de desgranulación. El IP_3 eleva las concentraciones intracelulares de Ca^{2+}, y el DAG, junto con Ca^{2+}, activa la cinasa de proteína C (PKC; fig. 15-6). El aumento de los valores intracelulares de Ca^{2+} y de PKC activada conduce a la desgranulación. (Una secuencia de señalización similar lleva a la activación de las células T; fig. 10-12.)

En el transcurso de los 15 s que siguen a la formación del enlace cruzado del receptor FcεRI se observa metilación de diversos fosfolípidos de membrana que produce incremento de la fluidez de la membrana y formación de canales de Ca^{2+}. El aumento del Ca^{2+} alcanza su máximo en los 2 min que siguen al enlace cruzado del FcεRI (fig. 15-7). Este aumento se debe tanto a captación de Ca^{2+} extracelular como a liberación de Ca^{2+} desde las reservas intracelulares en el retículo endoplásmico (fig. 15-6). El incremento del Ca^{2+} promueve el ensamblaje de microtúbulos y la contracción de microfilamentos, ambos procesos necesarios para el movimiento de gránulos hacia la membrana plasmática. Las proteínas SNARE (receptores solubles de unión a N-etilmaleimida), que están presentes tanto en los gránulos como en la membrana plasmática, tienen un papel importante en la fusión de los gránulos con la membrana celular y la exocitosis de los mediadores primarios relacionados con la desgranulación de los mastocitos. Además, el aumento de Ca^{2+}, junto con la inducción de una cinasa de proteína activada por mitógeno (MAPK), da por resultado tanto la producción de citocina como la activación de la enzima fosfolipasa A_2 (PLA_2). La PLA_2 hidroliza

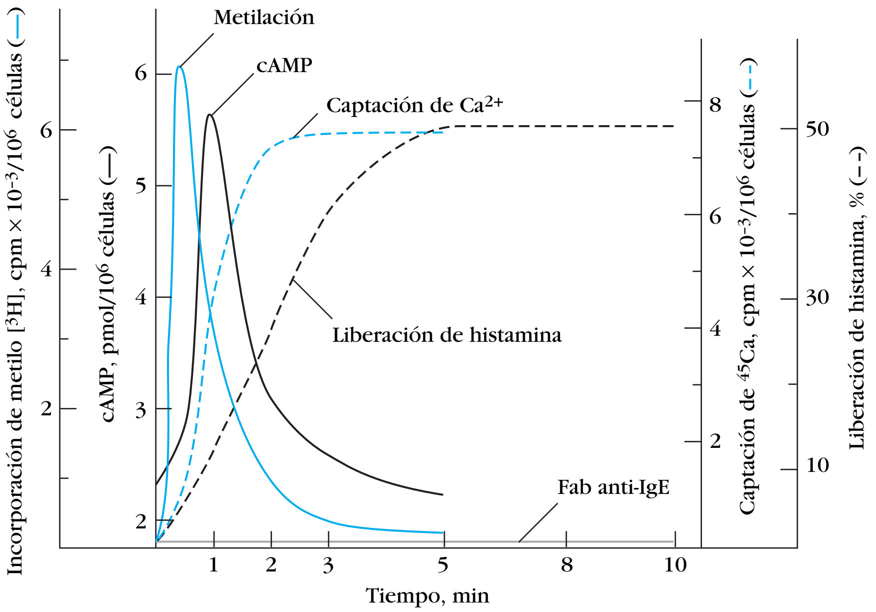


FIGURA 15-7 Cinética de los principales sucesos bioquímicos que siguen al enlace cruzado de la IgE fija sobre basófilos humanos cultivados con fragmentos F(ab')$_2$ de anti-IgE. Se ilustran curvas de metilación de fosfolípidos (línea azul continua), producción de cAMP (línea negra continua), entrada de Ca^{2+} (línea azul de guiones) y liberación de histamina (línea negra de guiones). No se observaron cambios significativos en los experimentos de control con fragmentos Fab anti-IgE. *[Adaptada de T. Ishizaka et al., 1985,* International Archives of Allergy and Applied Immunology ***77:****137.]*

fosfolípidos de membrana, lo que lleva a la formación de ácido araquidónico, que se convierte en dos clases de mediadores lipídicos potentes: **prostaglandinas** y **leucotrienos** (fig. 15-6). La importancia del aumento del Ca^{2+} en la desgranulación del mastocito se pone de relieve cuando se emplean fármacos, como el cromoglicato disódico (cromolín sódico), que bloquea esta entrada como forma de tratamiento de las alergias.

Junto con la metilación de fosfolípidos y el aumento del Ca^{2+} sobreviene un incremento transitorio de la actividad de la adenilciclasa fija a la membrana, con un máximo rápido de su producto de reacción, monofosfato cíclico de adenosina (cAMP), que se alcanza cerca de 1 min después del enlace cruzado del receptor FcεRI (fig. 15-7). Los efectos del cAMP se ejercen mediante la activación de cinasas de proteína dependientes de cAMP, que fosforilan las proteínas del gránulo de membrana y por tanto cambian la permeabilidad de los gránulos al agua y el cAMP (fig. 15-6). La tumefacción consecuente de los gránulos facilita su fusión con la membrana plasmática, lo que hace que liberen su contenido. El incremento del cAMP es transitorio y va seguido por disminución de éste hasta niveles inferiores a la cifra basal (fig. 15-7). Este decremento del cAMP parece necesario para que la desgranulación proceda; el proceso de desgranulación se bloquea cuando ciertos fármacos incrementan las concentraciones de cAMP. Varios de estos agentes se administran para tratar los trastornos alérgicos y se describen más adelante en esta sección.

Diversos agentes farmacológicos median las reacciones tipo I

Las manifestaciones clínicas de las reacciones de hipersensibilidad tipo I se relacionan con los efectos biológicos de los mediadores liberados durante la desgranulación de los mastocitos o los basófilos. Estos mediadores son agentes con actividad farmacológica que actúan tanto sobre los tejidos locales como sobre poblaciones de células efectoras secundarias, como eosinófilos, neutrófilos, linfocitos T, monocitos y plaquetas. Por tanto los mediadores sirven como un mecanismo efector terminal amplificador, de manera muy semejante a la función del sistema de complemento como amplificador y efector de la interacción antígeno-anticuerpo. Cuando se generan en respuesta a la infección parasitaria, estos mediadores inician procesos de defensa benéficos, inclusive vasodilatación e incremento de la permeabilidad vascular, que propician la entrada de plasma y células inflamatorias para atacar al agente patógeno. Por otra parte, la liberación de mediadores inducida por antígenos inapropiados, como alergenos, produce incrementos innecesarios de la permeabilidad vascular e inflamación, fenómenos cuyos efectos dañinos superan en gran medida cualquier otro efecto beneficioso.

Los mediadores pueden clasificarse como primarios o secundarios (cuadro 15-3). Los primarios se producen antes de la desgranulación y se almacenan en los gránulos. Los más importantes son histamina, proteasas, factor quimiotáctico de los eosinófilos, factor quimiotáctico de los neutrófilos y heparina. Los mediadores secundarios se sintetizan después de la activación de la célula blanco o se liberan al desintegrarse los fosfolípidos de membrana durante el proceso de desgranulación. Los mediadores secundarios incluyen factor activador de plaquetas, leucotrienos, prostaglandinas, bradicininas y diversas citocinas y quimiocinas. Las distintas manifestaciones de la hipersensibilidad tipo I en las distintas especies o los diferentes tejidos reflejan en parte variaciones en los mediadores primarios y secundarios presentes. Los principales efectos biológicos de algunos de estos mediadores se describen en forma breve en las secciones que siguen.

Histamina

La histamina, que se forma por descarboxilación del aminoácido histidina, es un componente de primer orden de los gránulos del mastocito y constituye cerca de 10% del peso de éstos. Como se almacena (es decir, se preforma) en los gránulos, sus efectos biológicos se observan en minutos tras la activación de estas células. Una vez liberada desde los mastocitos, la histamina se fija

CUADRO 15-3 Principales mediadores participantes en la hipersensibilidad tipo I

Mediador	Efectos
	PRIMARIOS
Histamina, heparina	Aumento de la permeabilidad vascular; contracción del músculo liso
Serotonina (roedores)	Aumento de la permeabilidad vascular; contracción del músculo liso
Factor quimiotáctico de eosinófilos (ECF-A)	Quimiotaxis de eosinófilos
Factor quimiotáctico de neutrófilos (NCF-A)	Quimiotaxis de neutrófilos
Proteasas (triptasa, quimasa)	Secreción bronquial de moco; degradación de la membrana basal de los vasos sanguíneos; generación de productos del desdoblamiento del complemento
	SECUNDARIOS
Factor activador de plaquetas	Agregación y desgranulación plaquetarias; contracción de los músculos lisos pulmonares
Leucotrienos (sustancia de reacción lenta de la anafilaxis, SRS-A)	Aumento de la permeabilidad vascular; contracción de los músculos lisos pulmonares
Prostaglandinas	Vasodilatación; contracción de los músculos lisos pulmonares; agregación plaquetaria
Bradicinina	Aumento de la permeabilidad vascular; contracción del músculo liso
Citocinas	
IL-1 y TNF-α	Anafilaxis sistémica; aumento de la expresión de cAMP en células de endotelio venular
IL-4 e IL-13	Mayor producción de IgE
IL-3, IL-5, IL-6, IL-10, TGF-β y GM-CSF	Diversos efectos (véase cuadro 12-1)

primero a receptores específicos sobre diversas células blanco. Se identifican tres tipos de receptores de la histamina: H_1, H_2 e H_3; estos receptores tienen diferentes distribuciones tisulares y median distintos efectos cuando fijan la histamina. La serotonina está presente en los mastocitos de los roedores y tiene efectos similares a la histamina.

La mayor parte de los efectos biológicos de la histamina durante las reacciones alérgicas son mediados por la fijación de histamina a los receptores H_1. Esta fijación induce contracción del músculo liso intestinal y bronquial, aumento de la permeabilidad de las vénulas e incremento de la secreción de moco por las células caliciformes. La interacción de la histamina con los receptores de H_2 aumenta la permeabilidad (por contracción de las células endoteliales) y la dilatación vasculares (por relajación del músculo liso de los vasos sanguíneos), estimula las glándulas exocrinas e incrementa la liberación de ácido en el estómago. La fijación de la histamina a los receptores H_2 sobre los mastocitos y los basófilos suprime la desgranulación; por ello la histamina ejerce realimentación negativa sobre la liberación de mediadores.

Leucotrienos y prostaglandinas

Como mediadores secundarios, los leucotrienos y las prostaglandinas no se forman sino hasta que el mastocito experimenta desgranulación y la desintegración enzimática de los fosfolípidos en la membrana plasmática ocurre. La cascada enzimática que sobreviene es la que genera las prostaglandinas y los leucotrienos (fig. 15-6). Por este motivo se requiere más tiempo para que los efectos biológicos de estos mediadores se manifiesten. Sin embargo, sus efectos son más pronunciados y prolongados que los de la histamina. Los leucotrienos median la broncoconstricción, el incremento de la permeabilidad vascular y la producción de moco. La prostaglandina D_2 ocasiona broncoconstricción.

La contracción del músculo liso bronquial y traqueal humano parece mediada al principio por la histamina pero, en 30 a 60 s, leucotrienos y prostaglandinas median la contracción ulterior. Puesto que son activos a concentraciones nanomolares, los leucotrienos tienen una potencia más de 1 000 veces mayor como broncoconstrictores que la histamina y además son estimuladores más potentes de la permeabilidad vascular y la secreción de moco. Se cree que los leucotrienos contribuyen al broncoespasmo prolongado y la acumulación de moco que se observan en caso de asma en el ser humano.

Citocinas

A la complejidad de la reacción tipo I se agrega la variedad de citocinas liberadas de mastocitos y basófilos. Algunas de ellas pueden contribuir a las manifestaciones clínicas de la hipersensibilidad tipo I. Los mastocitos humanos secretan IL-3, IL-4, IL-5, IL-6, IL-10, IL-13, GM-CSF y TNF-α, entre otras. Estas citocinas alteran el microambiente local y en última instancia conducen al reclutamiento de células inflamatorias como neutrófilos y eosinófilos. IL-4 e IL-13 estimulan una respuesta de T_H2 y por tanto incrementan la producción de IgE por las células B. La IL-5 es en particular importante para el reclutamiento y la activación de los eosinófilos. Las concentraciones elevadas de TNF-α que los mastocitos secretan pueden contribuir al choque que se observa en las reacciones anafilácticas sistémicas. (Este efecto puede ser paralelo a la función del TNF-α en el choque séptico bacteriano y el síndrome de choque tóxico descritos en el capítulo 12.)

Las reacciones tipo I pueden ser generales o localizadas

Las manifestaciones clínicas de las reacciones tipo I pueden variar entre problemas que ponen en peligro la vida, como anafilaxis sistémica y asma, y fiebre del heno y eccema, que son meras molestias.

Anafilaxis sistémica

La anafilaxis sistémica es un estado similar al choque y a menudo letal, que se inicia minutos después de una reacción de hipersensibilidad tipo I, usualmente a causa de un alergeno introducido directamente en el torrente sanguíneo o absorbido en el intestino o la piel. Ésta fue la reacción que Portier y Richet detectaron en perros a los que administraron una carga antigénica de toxina de medusa. Puede inducirse anafilaxis sistémica en diversos animales de experimentación y a veces se observa en seres humanos. Cada especie muestra síntomas característicos que reflejan diferencias en la distribución de los mastocitos y la actividad biológica del contenido de sus gránulos. El modelo animal preferido para estudiar la anafilaxis sistémica es el cobayo. La anafilaxis puede inducirse en estos animales con facilidad, y sus síntomas son estrechamente paralelos a los que se presentan en el ser humano.

La sensibilización activa en el cobayo se induce con una sola inyección de una proteína extraña, como albúmina de huevo. Después de un período de incubación de alrededor de dos semanas, suele administrarse al animal una carga de la misma proteína mediante inyección intravenosa. En plazo de 1 min el animal se torna inquieto, su respiración se vuelve laboriosa y su presión arterial se abate, un estado llamado **choque anafiláctico**. Cuando los músculos lisos del conducto gastrointestinal y la vejiga se contraen, el cobayo defeca u orina. Por último la constricción bronquiolar le produce la muerte por asfixia 2 a 4 min después de la inyección. Todos estos sucesos se deben a la vasodilatación general y la contracción del músculo liso desencadenadas por los mediadores que se liberan durante la reacción. La revisión de los animales revela que las causas principales de su muerte son edema masivo, choque y constricción bronquiolar.

La anafilaxis sistémica en el ser humano se caracteriza por una sucesión similar de acontecimientos. Se sabe que son muchos los antígenos que desencadenan esta reacción en el individuo susceptible, entre ellos los venenos de abejas, avispas, abejorros y hormigas, fármacos como la penicilina, la insulina y las antitoxinas, así como pescados y mariscos, y diversas semillas del tipo de las nueces. Si no se tratan con prontitud, estas reacciones pueden ser mortales. La adrenalina es el fármaco más adecuado para las reacciones anafilácticas sistémicas. Este fármaco contrarresta los efectos de mediadores como la histamina y los leucotrienos al relajar el músculo liso y reducir la permeabilidad vascular. La adrenalina también mejora el gasto cardíaco, lo cual es indispensable para prevenir el colapso vascular durante las reacciones anafilácticas. Además esta hormona aumenta las concentraciones de cAMP en el mastocito, lo que bloquea su desgranulación ulterior.

Reacciones de hipersensibilidad localizada (atopia)

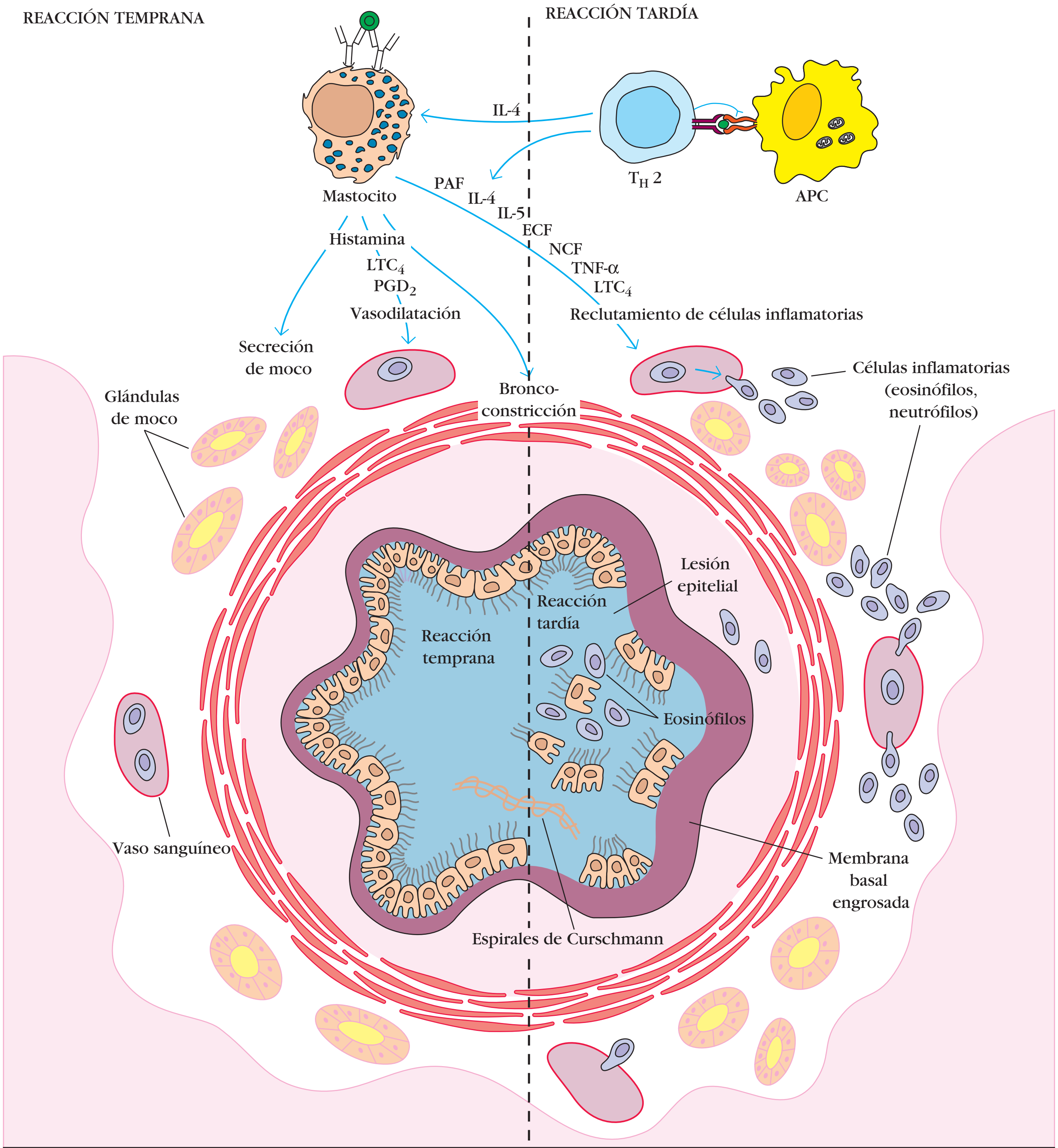
En la anafilaxis localizada la reacción se limita a un tejido u órgano blanco específicos y a menudo abarca las superficies epiteliales en el sitio de entrada del alergeno. La tendencia a manifestar reacciones anafilácticas localizadas es hereditaria y se denomina *atopia*. Las alergias atópicas, que afligen por lo menos a 20% de la población de los países desarrollados, incluyen gran variedad de trastornos mediados por IgE, como rinitis alérgica (fiebre del heno), asma, dermatitis atópica (eccema) y alergias alimentarias.

Rinitis alérgica El trastorno atópico más usual, que afecta a 10% de la población de Estados Unidos, es la rinitis alérgica, también conocida como fiebre del heno. Es resultado de la reacción entre los alergenos transportados por el aire y los mastocitos sensibilizados en las mucosas conjuntival y nasal, que induce la liberación de mediadores con actividad farmacológica desde los mastocitos; después estos mediadores producen vasodilatación y aumento de la permeabilidad capilar localizados. Los síntomas comprenden exudación acuosa de las conjuntivas, la mucosa nasal y las vías respiratorias superiores, así como estornudos y tos.

Asma Otra manifestación frecuente de la anafilaxis localizada es el asma. En algunos casos alergenos transportados por el aire y la sangre como pólenes, polvo, humos, productos de insectos o antígenos víricos desencadenan un ataque asmático (asma alérgica); en otros el ataque asmático es inducido por el ejercicio o el frío, al parecer de manera independiente de la estimulación por alergenos (asma intrínseca). Como la fiebre del heno, el asma se desencadena por la desgranulación de los mastocitos con liberación de sus mediadores, pero la reacción se desarrolla en la parte baja de las vías respiratorias en vez de en la mucosa nasal. La contracción resultante del músculo liso bronquial causa broncoconstricción. El edema de vías respiratorias, la secreción de moco y la inflamación contribuyen a la constricción bronquial y la obstrucción de las vías respiratorias. Los pacientes asmáticos pueden manifestar concentraciones anormales de receptores para los neuropéptidos. Por ejemplo, se informa que estos individuos tienen una expresión incrementada de receptores para la sustancia P, péptido que contrae el músculo liso, y una expresión disminuida de receptores para el péptido intestinal vasoactivo, que relaja el músculo liso.

La mayoría de los médicos considera al asma una enfermedad primordialmente inflamatoria. La reacción asmática puede clasificarse en temprana y tardía (fig. 15-8). La primera ocurre minutos después de la exposición al alergeno y comprende sobre todo histamina, leucotrienos (LTC_4) y prostaglandina (PGD_2). Los efectos de estos mediadores causan broncoconstricción, vasodilatación y cierta acumulación de moco. La reacción tardía se produce horas después e intervienen en ella mediadores adicionales, como IL-4, IL-5, IL-16, TNF-α, factor quimiotáctico de eosinófilos (ECF) y factor activador de plaquetas (PAF). Los efectos globales de estos mediadores consisten en expresión de moléculas de adhesión en células endoteliales así como reclutamiento de células inflamatorias, entre ellas eosinófilos y neutrófilos, en el tejido bronquial.

Neutrófilos y eosinófilos son capaces de producir lesión tisular importante al liberar enzimas tóxicas, radicales de oxígeno y citocinas. Estos sucesos ocasionan oclusión de la luz bronquial con moco, proteínas y desechos celulares, esfacelo del epitelio,


REACCIÓN TEMPRANA
REACCIÓN TARDÍA
IL-4
Mastocito
PAF
IL-4
IL-5
ECF
NCF
TNF-α
LTC_4
$T_H 2$
APC
Histamina
LTC_4
PGD_2
Vasodilatación
Reclutamiento de células inflamatorias
Secreción de moco
Glándulas de moco
Bronco-constricción
Células inflamatorias (eosinófilos, neutrófilos)
Lesión epitelial
Reacción tardía
Reacción temprana
Eosinófilos
Vaso sanguíneo
Membrana basal engrosada
Espirales de Curschmann

REACCIÓN TEMPRANA (minutos)		REACCIÓN TARDÍA (horas)	
Histamina	Vasodilatación	IL-4, TNF-α, LTC_4	Aumento de la adhesión de células endoteliales
PGD_2	Broncoconstricción	PAF, IL-5, ECF	Migración de leucocitos
LTC_4	Secreción de moco	IL-4, IL-5	Activación de leucocitos

FIGURA 15-8 Reacciones inflamatorias temprana y tardía en el asma. Las células inmunitarias que participan en estas reacciones se muestran arriba. Los efectos de varios mediadores sobre una vía respiratoria, representada en corte transversal, se ilustran en el centro.

engrosamiento de la membrana basal, acumulación de líquido (edema) e hipertrofia del músculo liso bronquial. A menudo se forma un tapón de moco que se adhiere a la pared bronquial. Este tapón contiene acumulaciones de fragmentos de células epiteliales desprendidas, eosinófilos, algunos neutrófilos y espirales de tejido bronquial que se conocen como espirales de Curschmann. La prevalencia del asma en Estados Unidos va en aumento, sobre todo entre los niños del interior de las ciudades (véase el enfoque clínico).

Alergias alimentarias Diversos alimentos también pueden inducir anafilaxis localizada en individuos alérgicos. El enlace cruzado del alergeno con la IgE sobre los mastocitos a lo largo de las partes superior o inferior del tubo digestivo puede promover contracción localizada del músculo liso y vasodilatación, y en consecuencia síntomas como vómito o diarrea. Es posible que la desgranulación de los mastocitos a lo largo del intestino aumente la permeabilidad de las mucosas, de manera que el alergeno entra en la sangre. Pueden sobrevenir diversos síntomas, que dependen del sitio en que el alergeno se deposite. Por ejemplo, algunos sujetos desarrollan ataques asmáticos después de ingerir ciertos alimentos. Otros experimentan urticaria atópica, a menudo descrita como ronchas, cuando el alergeno del alimento en cuestión se lleva hasta los mastocitos sensibilizados que se encuentran en la piel, lo que produce erupciones tumefactas (edematosas) y rojas (eritematosas); ésta es la llamada reacción de roncha y rubor.

Dermatitis atópica La dermatitis atópica (eccema alérgico) es una enfermedad inflamatoria de la piel que suele relacionarse con antecedentes familiares de atopia. La enfermedad se observa más a menudo en niños pequeños y por lo general se desarrolla durante la lactancia. Con frecuencia las concentraciones séricas de IgE están elevadas. El individuo alérgico presenta erupciones cutáneas eritematosas y purulentas. A diferencia de la reacción de hipersensibilidad tardía, en la que participan células T_H1, las lesiones cutáneas de la dermatitis atópica contienen células T_H2 y un número incrementado de eosinófilos.

Las reacciones de fase tardía inducen inflamación localizada

Conforme la reacción de hipersensibilidad tipo I empieza a ceder, los mediadores liberados durante su evolución a menudo producen inflamación localizada que se denomina reacción de fase tardía. Diferente a la reacción tardía que se observa en caso de asma, ésta empieza a desarrollarse 4 a 6 h después de la reacción inicial tipo I y persiste durante uno o dos días. Se caracteriza por infiltración de neutrófilos, eosinófilos, macrófagos, linfocitos y basófilos. Asimismo la reacción localizada de fase tardía puede ser mediada en parte por citocinas liberadas desde los mastocitos. Tanto TNF-α como IL-1 aumentan la expresión de las moléculas de adhesión celular sobre las células del endotelio venular, lo que facilita la acumulación de neutrófilos, eosinófilos y células T_H2 característica de la reacción de fase tardía.

Los eosinófilos desempeñan una función de primer orden en la reacción de fase tardía y constituyen cerca de 30% de las células acumuladas. El factor quimiotáctico de eosinófilos, liberado por los mastocitos durante la reacción inicial, atrae grandes cantidades de eosinófilos hacia el sitio afectado. Diversas citocinas liberadas en ese sitio, inclusive IL-3, IL-5 y GM-CSF, contribuyen al crecimiento y la diferenciación de los eosinófilos. Éstos expresan receptores Fc para los isotipos IgG e IgE, y se fijan directamente al alergeno cubierto por anticuerpo. De manera muy semejante a lo que ocurre con la desgranulación de los mastocitos, la fijación del antígeno cubierto con anticuerpo activa estos leucocitos y da por resultado su desgranulación y liberación de mediadores inflamatorios, entre ellos leucotrienos, proteína básica principal, factor activador de plaquetas, proteína catiónica de los eosinófilos (ECP) y neurotoxina derivada de los eosinófilos. La liberación de los mediadores derivados de esta clase de leucocitos puede desempeñar un papel protector en las infecciones parasitarias. Sin embargo, en respuesta a los alergenos, estos mediadores contribuyen a la lesión vascular extensa de la reacción de fase tardía. Está demostrado que la entrada de eosinófilos en esta reacción contribuye a la inflamación crónica de la mucosa bronquial que caracteriza al asma persistente.

Los neutrófilos son otros participantes mayores en las reacciones de fase tardía y constituyen 30% de las células inflamatorias. El factor quimiotáctico de neutrófilos liberado desde los mastocitos que se desgranulan los atrae hacia la zona de reacción tipo I. Además se sabe que diversas citocinas liberadas en ese sitio, incluida la IL-8, activan estos leucocitos y los conducen a liberar el contenido de sus gránulos, como enzimas líticas, factor activador de plaquetas y leucotrienos.

Las reacciones tipo I son reguladas por muchos factores

Como se observó antes, la dosis del antígeno, el modo de presentación de éste y la constitución genética del animal influyen en la magnitud de la reacción de IgE inducida por un antígeno (es decir, su alergenicidad). Un componente genético influye en la susceptibilidad del ser humano a las reacciones de hipersensibilidad tipo I, y se han identificado varios genes candidatos, como ya se mencionó. Si ambos padres son alérgicos, hay una posibilidad de 50% de que tengan un hijo alérgico; cuando uno de los progenitores lo es, la probabilidad de que su hijo manifieste alguna clase de reacción tipo I es de 30%.

La inmunización de ratones BDF1 ilustra el efecto de la posología del antígeno sobre la reacción de IgE. Las dosis bajas repetidas de un antígeno apropiado inducen una reacción de IgE persistente en estos ratones, pero las dosis más altas resultan en producción transitoria de IgE y cambio a la de IgG. También el modo de presentación del antígeno influye en el desarrollo de la reacción de IgE. Por ejemplo, la inmunización de ratas de la cepa Lewis con hemocianina de lapa (KLH) más gel de hidróxido de aluminio o *Bordetella pertussis* como coadyuvantes induce una intensa reacción de IgE, en tanto que la inyección de KLH con coadyuvante completo de Freund produce una reacción sobre todo de IgG. La infección de ratones por el nematodo *Nippostrongylus brasiliensis* (Nb), como ciertos coadyuvantes, induce de modo preferencial una reacción de IgE. Por ejemplo, los ratones infectados con Nb, cuando se inoculan con un antígeno no relacionado, desarrollan concentraciones más elevadas de IgE que los ratones testigos no infectados. Las concentraciones

ENFOQUE CLÍNICO

Genética del asma

El asma afecta a casi 10% de la población de Estados Unidos. Por motivos que aún no se esclarecen, la incidencia del asma se incrementó hace poco de manera impresionante en los países desarrollados. Es incluso más alarmante que también la gravedad de esta enfermedad parece estar en aumento. El incremento de la mortalidad por asma es máximo entre los niños, y en Estados Unidos la mortalidad lo es entre los niños afroestadounidenses del interior de las ciudades. En 2003 tuvieron asma 9.1 millones de niños, y más de 200 de ellos fallecieron. Estas estadísticas se incrementan cada año. Además de sus costos humanos, el asma impone costos financieros elevados a la sociedad. El costo del tratamiento del asma en Estados Unidos excedió de 16 000 millones de dólares durante el año 2004.

El asma suele definirse como una enfermedad inflamatoria de las vías respiratorias y se caracteriza por hiperreactividad bronquial, de lo que resultan obstrucción de vías respiratorias y sibilancia. Los individuos atópicos, es decir, los que experimentan predisposición a las reacciones de hipersensibilidad tipo I, son los más susceptibles al desarrollo de hiperreactividad bronquial y asma, pero sólo 10 a 30% de los individuos atópicos en realidad presenta asma. La comprobación de que el asma tiene un componente genético se obtuvo originalmente de estudios familiares, en los que se estimó que la contribución relativa de los factores genéticos a la atopia y al asma es de 40 a 60%. Aunque los factores genéticos son importantes, estudios ulteriores indican que los factores ambientales también tienen un papel importante. Además, el asma es una enfermedad genética compleja controlada por varios genes, de modo que es probable que la susceptibilidad a ésta comprenda la interacción de múltiples factores genéticos y ambientales.

¿Cómo se identifican los genes que contribuyen a una enfermedad multigénica compleja como ésta? Un criterio es el del gen candidato, en el que una hipótesis sugiere que un gen o una serie de genes en particular puede tener alguna relación con la enfermedad. Después de identificar el gen o los genes, se investigan las familias con predisposición manifiesta a la enfermedad en busca de alelos polimórficos del gen o los genes en cuestión. La comparación de los miembros de la familia que tienen o no la enfermedad permite establecer la correlación entre un alelo particular y la presencia del padecimiento. El problema con este criterio es que se inclina hacia la identificación de genes de antemano sospechosos de participar en la enfermedad, lo que impide la identificación de genes nuevos.

Un buen ejemplo del empleo del criterio de gen candidato es la identificación de una región en el cromosoma 5, 5q31-33, que al parecer se relaciona con el desarrollo del asma. Con base en el criterio de gen candidato se investigó esta región porque contiene una acumulación de genes de citocinas, entre ellos los que codifican IL-3, IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13, así como el gen que codifica el factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos. Se cree que la *IL-4* es un buen gen candidato porque induce el cambio de la clase Ig a la IgE. Diversos grupos de investigadores examinaron esta región en diferentes poblaciones y concluyeron que existe un polimorfismo relacionado con la predisposición al asma que ubica la región promotora de la *IL-4*. Asimismo se identificaron dos alelos de la *IL-9* relacionados con la atopia. En experimentos de clonación posicional recientes se identificaron tres genes vinculados con el asma:

relativas de los subconjuntos T_H1 y T_H2 también son clave para la regulación de las reacciones de hipersensibilidad tipo I. Las células T_H1 reducen la reacción, mientras que las células T_H2 la incrementan. Las citocinas secretadas por las células T_H2 —de las cuales las más importantes son IL-4, IL-5, IL-9 e IL-13— estimulan la reacción tipo I de diversas maneras. IL-4 e IL-13 intensifican el cambio de clase a IgE y regulan la expansión clonal de las células B comprometidas para producir IgE; IL-4 e IL-9 fomentan la producción de mastocitos, en tanto que IL-5 e IL-9 intensifican la maduración, activación y acumulación de eosinófilos. En contraste, las células T_H1 producen IFN-γ, que inhibe la reacción tipo I.

Los experimentos de W. E. Paul y colaboradores demostraron la función de primera importancia de la IL-4 en la regulación de la reacción tipo I. Cuando estos investigadores activaron células B normales no cebadas in vitro con la endotoxina bacteriana lipopolisacárido (LPS), sólo 2% de las células expresó IgG1 de membrana y sólo 0.05% IgE de membrana. Sin embargo, cuando incubaron células B no cebadas con LPS e IL-4, el porcentaje de células que expresaban IgG1 aumentó hasta 40 a 50% y el de aquellas que expresaban IgE se elevó hasta 15 a 25%. En un intento por saber si la IL-4 interviene en la regulación de la producción de IgE in vivo, Paul cebó ratones infectados por Nb con el antígeno inocuo TNP-KLH en presencia y ausencia de anticuerpo monoclonal contra la IL-4. Este anticuerpo redujo la producción de IgE específica para el antígeno TNP-KLH en estos ratones hasta 1% del nivel observado en los animales testigo.

Los experimentos de K. Rajewsky y colaboradores con ratones en los que desactivaron el gen de la IL-4 brindan apoyo ulterior a la función de la IL-4 en la reacción de la IgE. Estos animales deficientes en IL-4 no pudieron montar una reacción de IgE contra los antígenos helmínticos. Más aún, se detectan concentraciones incrementadas de células T_H2 $CD4^+$ y de IL-4 en individuos atópicos. Cuando se clonan células T $CD4^+$ específicas de alergeno de individuos atópicos y se añaden a un cultivo autólogo de células B, estas últimas sintetizan IgE, en tanto que las células T $CD4^+$ específicas de alergeno de individuos no atópicos no apoyan la producción de IgE.

En contraste con la IL-4, el IFN-γ disminuye la producción de IgE, lo que sugiere que la cantidad de IgE producida puede depender del equilibrio entre IL-4 e IFN-γ (fig. 15-9). Como el IFN-γ es secretado por el subconjunto de células T_H1 y la IL-4 lo es por el subconjunto T_H2, la actividad relativa de estos

ADAM33, que codifica una enzima expresada en tejido liso bronquial, y *PHF11* y *DPP10*, ambos implicados en la inducción de T_H2 y la inflamación por IgE.

Otro criterio para identificar los genes relacionados con una enfermedad en particular es la búsqueda genómica al azar. En este método se investiga todo el genoma en busca de polimorfismos relacionados con la enfermedad en cuestión. Con base en un criterio genómico al azar P. Lympany y colaboradores identificaron un enlace entre un polimorfismo en el cromosoma 11 —de manera más específica la región 11q13— relacionado con la atopia en familias inglesas. Esta región se encuentra en la vecindad de la subunidad β del FcεRIβ. Esta relación despertó gran interés porque se sabe lo importante que es la IgE en la mediación de las reacciones tipo I. Estudios adicionales a lo ancho del genoma (y de genes candidatos) han confirmado la relación de polimorfismos del gen para la subunidad β de FcεRIβ con atopia y con el desarrollo de asma y dermatitis atópica. Sin embargo, esta asociación, como otras, requerirá más análisis cuidadosos dado que algunos estudios no confirman la ligadura de 11q con atopia y asma.

En fecha más reciente se efectuó una gran investigación a toda la amplitud del genoma para identificar los loci relacionados con el asma en poblaciones de grupos étnicos diferentes que incluyó a individuos caucásicos, hispanos y afroestadounidenses. Este estudio, publicado por el U.S. Collaborative Study on the Genetics of Asthma, un gran grupo de colaboración entre centros médicos de todo Estados Unidos, identificó muchos loci candidatos relacionados con el asma. Un locus en el cromosoma 5 coincidió con la región identificada con anterioridad en 5q31-33. Sin embargo, este locus se relacionó con el asma en caucásicos pero no en hispanos o afroestadounidenses. De manera semejante, pareció que algunos loci guardaban una correlación elevada con el asma sólo en hispanos, y se identificaron otros loci como únicos de los afroestadounidenses.

Otra conclusión interesante consistió en que la relación entre el cromosoma 11q y la atopia no pareció tener nada que ver con el asma. Esto indicaría que asma y atopia tienen bases moleculares diferentes. Lo que es más importante, sugiere que no debe confundirse entre el enlace genético con la atopia y el enlace genético con el asma. De manera global este estudio identificó varios genes relacionados con el asma y encontró que su número y su importancia relativa pueden diferir entre los grupos étnicos. Esto sugiere, además, que tanto las diferencias genéticas como las diferencias ambientales pueden ser las bases subyacentes de los distintos aspectos observados en la prevalencia y la gravedad del padecimiento entre los grupos étnicos de Estados Unidos.

Está bien documentado que porcentajes mayores que los promedio de niños afroestadounidenses del interior de las ciudades experimentan complicaciones graves del asma. Esto plantea la interrogante de si los afroestadounidenses tienen predisposición genética al asma. Un informe publicado en 1997 por D. L. Rosenstreich y colaboradores indica un vínculo ambiental importante con el asma en el interior de las ciudades. Este grupo valoró la función de las alergias a las cucarachas en el desarrollo del asma; encontró que una combinación de alergia a las cucarachas y exposición a concentraciones elevadas de alergeno de estos insectos podría explicar la frecuencia elevada de problemas de salud relacionados con el asma de los niños que habitan en el interior de las ciudades. Estos datos señalan además defectos de los sistemas de salud pública en las grandes ciudades. Está claro que el esfuerzo concertado de las instituciones públicas para erradicar las infestaciones por insectos sería beneficioso para la salud de quienes viven en comunidades urbanas.

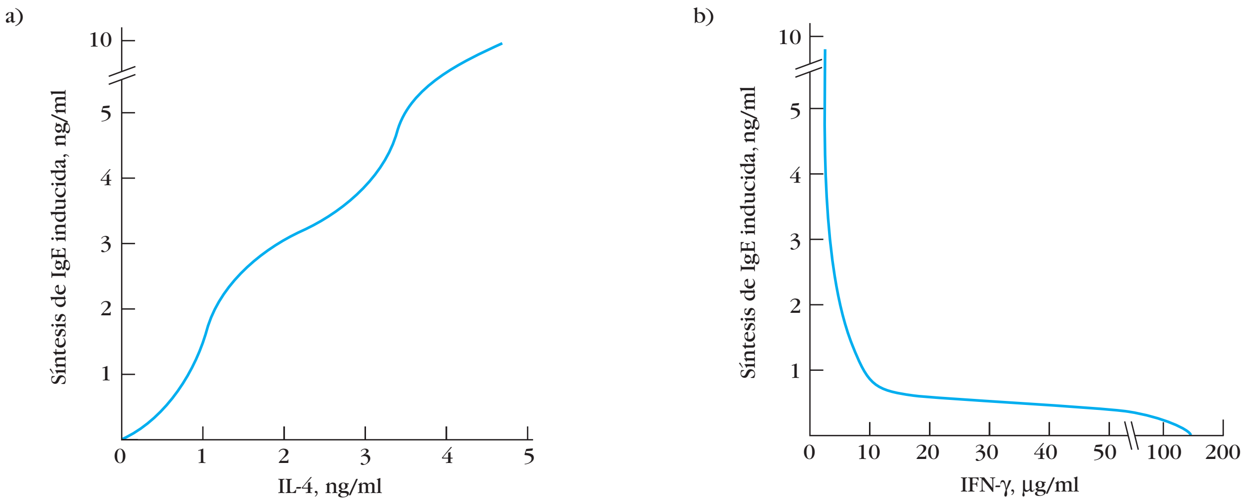


FIGURA 15-9 Efecto de IL-4 e IFN-γ sobre la producción in vitro de IgE. Estas gráficas muestran la cantidad de IgE producida por células plasmáticas cultivadas en presencia de diversas concentraciones de IL-4 (a) o IFN-γ (b). *[Adaptada de G. Del Prete, 1988,* Journal of Immunology ***140:****4193.]*

subconjuntos puede influir en la respuesta del individuo a los alergenos. Conforme a esta suposición, los individuos atópicos y no atópicos experimentarían reacciones tipo I a un antígeno diferentes desde el punto de vista cualitativo; la reacción en individuos atópicos comprendería el subconjunto de células T_H2 y tendría como consecuencia la producción de IgE; la reacción en individuos no atópicos incluiría el subconjunto de células T_H1 y su resultado sería la producción de IgM o IgG. Para someter a prueba esta hipótesis se clonaron células T específicas de alergeno de individuos atópicos y no atópicos. Las células T clonadas de los sujetos atópicos fueron sobre todo del fenotipo T_H2 (secretoras de IL-4), en tanto que las de los no atópicos eran de manera predominante del fenotipo T_H1 (secretoras de IFN-γ). Sobra decir que existe gran interés en inhibir la producción de IL-4 como posible tratamiento de las personas alérgicas.

Se emplean diversos métodos para identificar las reacciones de hipersensibilidad tipo I

A menudo se identifica y valora la hipersensibilidad tipo I mediante pruebas cutáneas. Se introducen pequeñas cantidades de alergenos potenciales en sitios específicos de la piel por inyección intradérmica o raspado superficial. Puede aplicarse a la vez cierto número de pruebas a sitios del antebrazo o el dorso del individuo. Los mastocitos locales se desgranulan y la histamina y otros mediadores liberados desde éstos producen una reacción de roncha y rubor en 30 min si la persona es alérgica a la sustancia en cuestión (fig. 15-10). La ventaja de la prueba cutánea consiste en que es relativametne económica y permite investigar gran número de alergenos al mismo tiempo. La desventaja radica en que a veces el individuo resulta sensibilizado a los nuevos alergenos y, en casos raros, éstos inducen choque anafiláctico sistémico. Unas cuantas personas manifiestan también una reacción de fase tardía, que sobreviene 4 a 6 h después de la prueba y puede durar hasta 24 h. Como ya se señaló, se acumulan eosinófilos durante la reacción de fase tardía, y la liberación del contenido de sus gránulos contribuye a la lesión tisular que ocurre durante ésta.

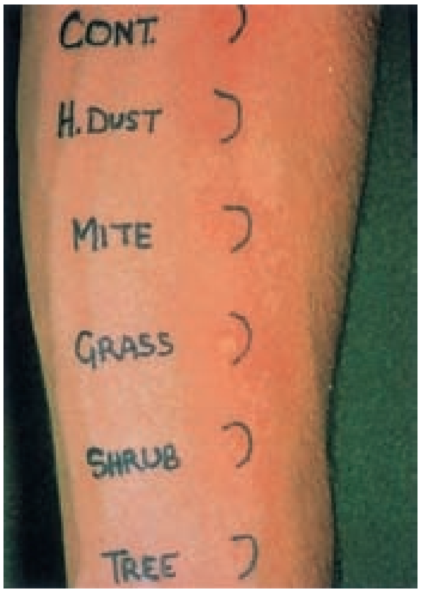


FIGURA 15-10 Prueba cutánea efectuada mediante inyección intradérmica de alergenos en la superficie anterior del antebrazo. Este individuo desarrolló una reacción de roncha y rubor en unos cuantos minutos en el sitio en el que se inyectó un tipo de pasto ("*grass*"), que indica que es alérgico a éste. Los alergenos son, de arriba abajo, testigo (cont), polvo de heno (h. dust), ácaro (mite), pasto (grass), matorral (shrub), árbol (tree). *[De L. M. Lichtenstein, 1993,* Scientific American ***269****(2):117. Utilizada con autorización.]*

Otro método para valorar la hipersensibilidad tipo I consiste en determinar la concentración sérica total de anticuerpo IgE mediante la prueba de radioinmunosorbencia (RIST). Esta técnica altamente sensible, que se basa en el radioinmunoensayo, puede identificar cantidades nanomolares totales de IgE. El suero del paciente se hace reaccionar con cuentas de agarosa o discos de papel cubiertos con anticuerpos anti-IgE de conejo. Después de lavar las cuentas o los discos, se añade anticuerpo anti-IgE de conejo marcado con ^{125}I. La radiactividad de las cuentas o los discos, medida con un contador gamma, es proporcional al contenido de IgE en el suero del paciente (fig. 15-11a).

La prueba de radioalergosorbencia (RAST), similar a la anterior, detecta la concentración sérica de IgE específica de un alergeno determinado. Tras mezclar el alergeno con cuentas o discos y añadir el suero del paciente, se lavan éstos para eliminar el anticuerpo que no se fijó. A continuación se mide la cantidad de IgE específica fija al alergeno de fase sólida mediante la adición de anticuerpo anti-IgE de conejo marcado con ^{125}I, el lavado de las cuentas o los discos y la lectura de la radiactividad fija con el contador gamma (fig. 15-11b). Nuevas adaptaciones de los ensayos RIST y RAST hacen innecesario el uso de radiactividad al recurrir a marcadores alternativos, como fluorescencia, para detectar IgE.

Las hipersensibilidades tipo I pueden controlarse por medios médicos

La primera etapa obvia para el control de las hipersensibilidades tipo I es evitar el contacto con los alergenos conocidos. A menudo la eliminación de las mascotas del hogar, las medidas para el control del polvo o la evitación de los alimentos dañinos suprimen las reacciones tipo I. Puesto que la eliminación de los antígenos que se inhalan (como los pólenes) es físicamente imposible, deben emprenderse otros métodos de intervención.

Desde hace tiempo se sabe que la inmunoterapia con inyecciones repetidas de dosis crecientes de alergenos (**hiposensibilización**) reduce la gravedad de las reacciones tipo I, o incluso las elimina por completo, en un número importante de individuos que sufren rinitis alérgica. Esta introducción repetida del alergeno mediante inyecciones subcutáneas parece causar un cambio hacia la producción de IgG o inducir la supresión mediada por células T (tal vez mediante un cambio hacia el subconjunto de células T_H1 y la producción de IFN-γ) que suprime la reacción de IgE (fig. 15-12). En esta situación el anticuerpo IgG se conoce como *anticuerpo bloqueador* porque compite con el alergeno, se fija a éste y forma un complejo que puede removerse por fagocitosis; como resultado el alergeno no está disponible para el enlace cruzado con la IgE fija sobre las membranas de los mastocitos y esto determina que los síntomas de alergia disminuyan.

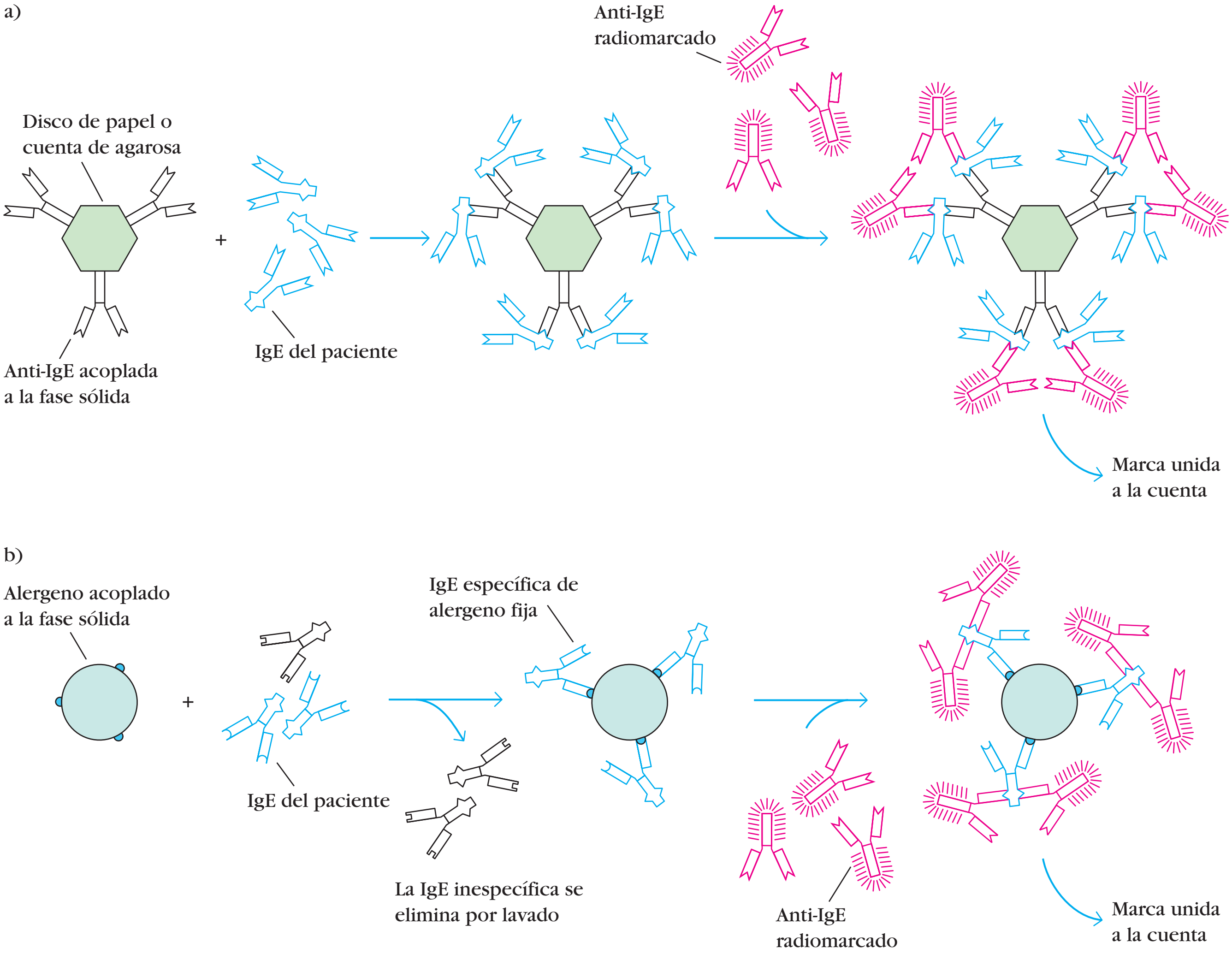

a)
Anti-IgE radiomarcado
Disco de papel o cuenta de agarosa
+
Anti-IgE acoplada a la fase sólida
IgE del paciente
Marca unida a la cuenta
b)
Alergeno acoplado a la fase sólida
+
IgE específica de alergeno fija
IgE del paciente
La IgE inespecífica se elimina por lavado
Anti-IgE radiomarcado
Marca unida a la cuenta

FIGURA 15-11 Procedimientos empleados para valorar la reacción de hipersensibilidad tipo I. a) La prueba de radioinmunosorbencia (RIST) puede determinar cantidades en nanogramos de la IgE sérica total. b) La prueba de radioalergosorbencia (RAST) puede determinar cantidades en nanogramos de la IgE sérica específica para un antígeno en particular.

Se evalúa el papel de las células T_{reg} en la hiposensibilización, ya que estas células podrían participar en el bloqueo de reacciones alérgicas. También se valoran nuevos protocolos de hiposensibilización que incorporan péptidos derivados de los alergenos, vacunas de DNA y coadyuvantes.

Otra forma de inmunoterapia es el empleo de anti-IgE monoclonal humanizada. Estos anticuerpos se fijan a la IgE, pero sólo si ésta aún no se fija a FcεRI; lo último haría que se liberara histamina. Estos anticuerpos interactúan de manera selectiva sólo con IgE no unida a FcεRI enlazándose al mismo sitio en la IgE que hace contacto con el FcεRI. Estos anticuerpos se humanizan mediante técnicas de ingeniería genética aplicadas a los genes que codifican las cadenas H y L; las regiones de armazón murinas se reemplazan con secuencias de armazón humanas y el resultado final es una quimera murina-humana monoclonal que no es probable que el sistema inmunitario humano reconozca como extraña. Cuando se inyectan a personas que sufren alergia, estos anticuerpos pueden fijar la IgE libre e inhibir su producción por las células B así como la expresión de FcεRI por mastocitos y eosinófilos. Esto da por resultado concentraciones séricas de IgE más bajas, que a su vez reducen la sensibilidad de mastocitos y basófilos. Esta forma de inmunoterapia es útil para tratar muchas clases de alergias, en particular las alimentarias discapacitantes. El omalizumab fue el primer anticuerpo anti-IgE en ser aprobado en Estados Unidos (en 2003) para el tratamiento del asma alérgica. Aunque reduce en grado impresionante las concentraciones de IgE en pacientes con asma y rinitis, el fármaco sólo ha tenido resultados modestos en términos de calidad de vida, lo cual debe ponderarse contra el costo del régimen.

Otro criterio para tratar las alergias surgió de la observación de que los antígenos solubles tienden a inducir un estado de anergia al activar las células T en ausencia de la señal coestimuladora necesaria (fig. 10-15). Al parecer un antígeno soluble se interna en la célula por endocitosis, se somete a procesamiento y se presenta con moléculas de MHC tipo II, pero no induce la expresión del ligando coestimulador (B7), que es un requisito, sobre las células presentadoras de antígeno. También se investigan otros métodos encaminados a bloquear la acción de citocinas (como anti-IL-4 y anti-IL-5) y receptores de citocinas, así como el uso de oligonucleótidos de contrasentido.

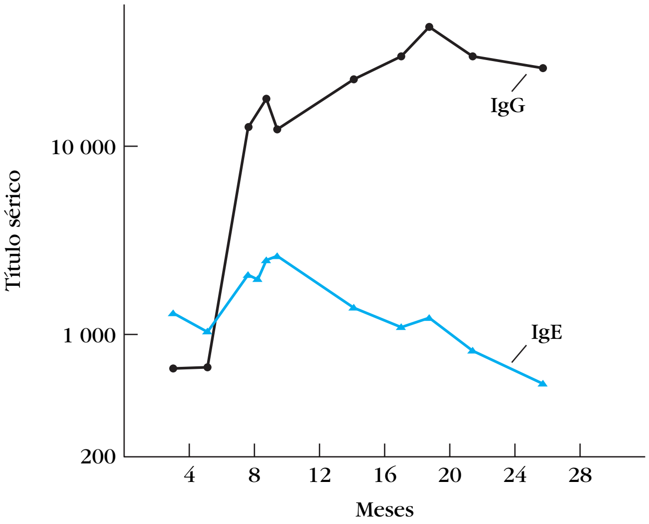


FIGURA 15-12 Tratamiento hiposensibilizante para la alergia tipo I. La inyección periódica de antígeno de ambrosía durante dos años a un individuo sensible a ella indujo una disminución gradual de las concentraciones de IgE y un aumento impresionante de las de IgG. Ambos anticuerpos se midieron mediante radioinmunoensayo. *[Adaptada de K. Ishizaka y T. Ishizaka, 1973, en* Asthma Physiology, Immunopharmacology and Treatment, *K. F. Austen y L. M. Lichtenstein (eds.), Academic Press, London.]*

El conocimiento del mecanismo de desgranulación de los mastocitos y los mediadores que participan en las reacciones tipo I abrió el camino a la farmacoterapia de las alergias. Los antihistamínicos son los fármacos de más utilidad para tratar los síntomas de rinitis alérgica. La acción de estos fármacos consiste en fijarse a los receptores de histamina en la célula blanco y bloquear la fijación de histamina en ellos. Los antihistamínicos clásicos bloquean los receptores H_1; los antihistamínicos H_1 de segunda generación no reaccionan con receptores colinérgicos, y por tanto no tienen efectos secundarios sedantes. Los nuevos antialérgicos bloquean las actividades de leucotrienos y prostaglandinas más que las de histamina.

CUADRO 15-4 Mecanismos de acción de algunos fármacos empleados para tratar la hipersensibilidad tipo I

Fármacos	Acción
Antihistamínicos	Bloquean los receptores H_1 y H_2 sobre las células blanco
Cromolín sódico	Bloquea la entrada de Ca^{2+} en los mastocitos
Teofilina	Prolonga las concentraciones altas de cAMP en los mastocitos al inhibir la fosfodiesterasa, que escinde el cAMP a 5′-AMP*
Adrenalina	Estimula la producción de cAMP al fijarse a los receptores adrenérgicos β sobre los mastocitos*
Cortisona	Reduce las concentraciones de histamina al bloquear la conversión de histidina en histamina, y estimula la producción de cAMP por los mastocitos*

*Aunque el cAMP aumenta de manera transitoria durante la activación de los mastocitos, su desgranulación se impide si las concentraciones de cAMP se mantienen elevadas.

Varios fármacos bloquean la liberación de mediadores de la alergia al interferir en diversas etapas bioquímicas de la activación y la desgranulación de los mastocitos (cuadro 15-4). El cromoglicato disódico (cromolín sódico) impide la entrada de Ca^{2+} en estas células. La teofilina, que suele administrarse a los asmáticos por vía oral o mediante inhaladores, bloquea la fosfodiesterasa, que cataliza el desdoblamiento del cAMP hasta 5′-AMP. El resultante aumento prolongado de las concentraciones de cAMP bloquea la desgranulación. Diversos fármacos estimulan el sistema adrenérgico β al hacerlo con los receptores de esta clase. Como se mencionó antes, suele administrarse adrenalina (también conocida como epinefrina) durante el choque anafiláctico. Actúa por fijación a los receptores adrenérgicos β sobre las células de músculo liso bronquial y los mastocitos, y por aumento del contenido de cAMP de estas células. Las concentraciones incrementadas de cAMP promueven la relajación de los músculos bronquiales y el decremento de la desgranulación de los mastocitos. Se cuenta con diversos análogos de la adrenalina que se fijan a receptores adrenérgicos β seleccionados e inducen aumentos del cAMP con menos efectos adversos que los observados con la adrenalina. También se emplea cortisona y algunos otros fármacos antiinflamatorios no esteroides para reducir las reacciones tipo I.

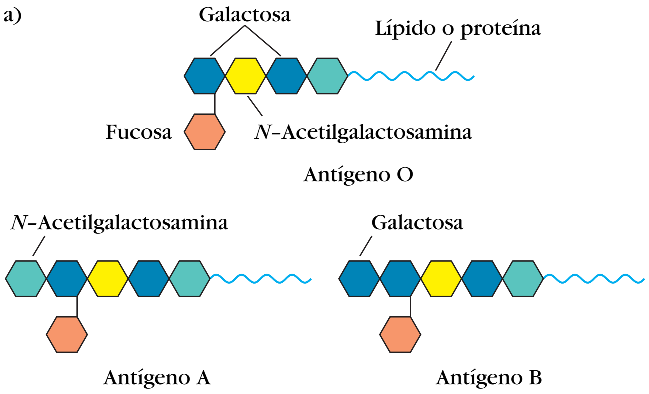
Hipersensibilidad citotóxica mediada por anticuerpo (tipo II)

Las reacciones de hipersensibilidad tipo II se caracterizan por destrucción de células mediada por anticuerpo. El anticuerpo puede activar el sistema del complemento al crear poros en la membrana de la célula extraña (fig. 7-8) o intervenir en la destrucción celular al propiciar la citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo (ADCC). En este proceso las células citotóxicas que tienen receptores Fc se fijan a la región Fc de anticuerpos en las células blanco y promueven la destrucción de éstas (fig. 14-12). El anticuerpo fijo a una célula extraña puede actuar también como opsonina y permitir que las células fagocíticas que cuentan con receptores Fc o C3b se fijen a la célula cubierta con anticuerpo y fagocitarla (fig. 7-13).

En esta sección se examinan tres ejemplos de reacciones de hipersensibilidad tipo II. Ciertas enfermedades autoinmunitarias se distinguen por destrucción celular mediada por autoanticuerpos mediante mecanismos tipo II. Estas enfermedades se describen en el capítulo 16.

Las reacciones transfusionales son tipo II

Gran número de proteínas y glucoproteínas situadas sobre las membranas de los eritrocitos son codificadas por genes diferentes, cada uno de ellos con cierto número de alelos alternativos. El individuo que posee una forma alélica de un antígeno de grupo sanguíneo puede reconocer como extrañas otras formas alélicas en la sangre que se le transfunde y montar una reacción de anticuerpo contra ellas. En algunos casos los anticuerpos se indujeron



b)

Genotipo	Fenotipo de grupo sanguíneo	Antígenos en los eritrocitos *(aglutininas)*	Anticuerpos séricos *(isohemaglutininas)*
AA o AO	A	A	Anti-B
BB o BO	B	B	Anti-A
AB	AB	A y B	Ninguno
OO	O	Ninguno	Anti-A y anti-B

FIGURA 15-13 Grupo sanguíneo ABO. a) Estructura de los azúcares terminales, que constituyen los epítopos distintivos, en los antígenos sanguíneos A, B y O. b) Genotipos ABO y fenotipos, aglutininas e isohemaglutininas correspondientes.

de antemano por la exposición natural a determinantes antigénicos similares contenidos en diversos microorganismos que se encuentran en la flora intestinal normal. Esto es lo que sucede en el caso de los antígenos de grupo sanguíneo ABO (fig. 15-13a).

Los anticuerpos contra los antígenos A, B y O, llamados isohemaglutininas, suelen ser de la clase IgM. El sujeto que tiene grupo sanguíneo A, por ejemplo, reconoce los epítopos del tipo B contenidos en los microorganismos intestinales y produce isohemaglutininas contra dichos epítopos. Este mismo individuo no reacciona a los epítopos del tipo A contenidos en los mismos microorganismos intestinales porque estos epítopos son muy similares a los propios y en su organismo debe existir un estado de autotolerancia a ellos (fig. 15-13b). Si una persona del grupo sanguíneo A recibe una transfusión de sangre que contiene eritrocitos del grupo B, experimenta una **reacción transfusional** en la que las isohemaglutininas anti-B se fijan a los eritrocitos del grupo B e inducen su destrucción por lisis mediada por complemento. Es posible que se produzcan anticuerpos contra los otros antígenos de grupo sanguíneo a causa de transfusiones repetidas de sangre porque las diferencias alélicas menores en estos antígenos pueden estimular la producción de anticuerpos. Estos anticuerpos suelen ser de la clase IgG.

Las manifestaciones clínicas de las reacciones transfusionales son resultado de hemólisis intravascular masiva de los eritrocitos transfundidos por anticuerpos más complemento. Estas manifestaciones pueden ser inmediatas o tardías. Las reacciones que inician de inmediato se relacionan más a menudo con incompatibilidades de grupo sanguíneo ABO, que conducen a lisis mediada por complemento desencadenada por isohemaglutininas IgM. En plazo de horas se identifica hemoglobina libre en el plasma; ésta se filtra por los riñones y el resultado es hemoglobinuria. Parte de esta hemoglobina se convierte en bilirrubina, que a concentraciones elevadas resulta tóxica. Los síntomas característicos incluyen fiebre, escalofríos, náuseas, coagulación intravascular, dolor en la parte baja de la espalda y presencia de hemoglobina en la orina. El tratamiento consiste en interrumpir de inmediato la transfusión y conservar la excreción de orina mediante un diurético, porque la acumulación de hemoglobina en los riñones puede causar necrosis tubular aguda.

Por lo general las reacciones transfusionales hemolíticas tardías se presentan en personas que recibieron transfusiones repetidas de sangre ABO compatible que es incompatible con respecto a otros antígenos de grupo sanguíneo. Estas reacciones se desarrollan dos a seis días después de la transfusión y reflejan su naturaleza secundaria. La sangre transfundida induce selección clonal y producción de IgG contra diversos antígenos membranales de grupo sanguíneo, con más frecuencia Rh, Kidd, Kell y Duffy. El isotipo predominante que participa en estas reacciones es IgG, menos eficaz que el isotipo IgM para activar el complemento. Por este motivo la lisis mediada por complemento de los eritrocitos transfundidos es incompleta y muchas de estas células se destruyen en sitios extravasculares por aglutinación, opsonización y fagocitosis subsecuente por los macrófagos. Los síntomas comprenden fiebre, hemoglobina baja, aumento de la bilirrubina, ictericia leve y anemia. No suele identificarse hemoglobina libre en el plasma o la orina en estas reacciones porque la destrucción de los eritrocitos ocurre en localizaciones extravasculares.

La enfermedad hemolítica del neonato se debe a reacciones tipo II

La enfermedad hemolítica del neonato se desarrolla cuando anticuerpos IgG maternos específicos contra los antígenos de grupo sanguíneo fetales cruzan la placenta y destruyen los eritrocitos del feto. Las consecuencias de esta transferencia pueden ser menores, graves o letales. La enfermedad hemolítica grave del neonato, llamada **eritroblastosis fetal**, se desarrolla más a menudo cuando un feto de grupo Rh positivo (Rh^+) expresa en sus eritrocitos un **antígeno Rh** que los de la madre de tipo Rh negativo (Rh^-) no expresan. Durante el embarazo los eritrocitos fetales están separados de la circulación de la madre por

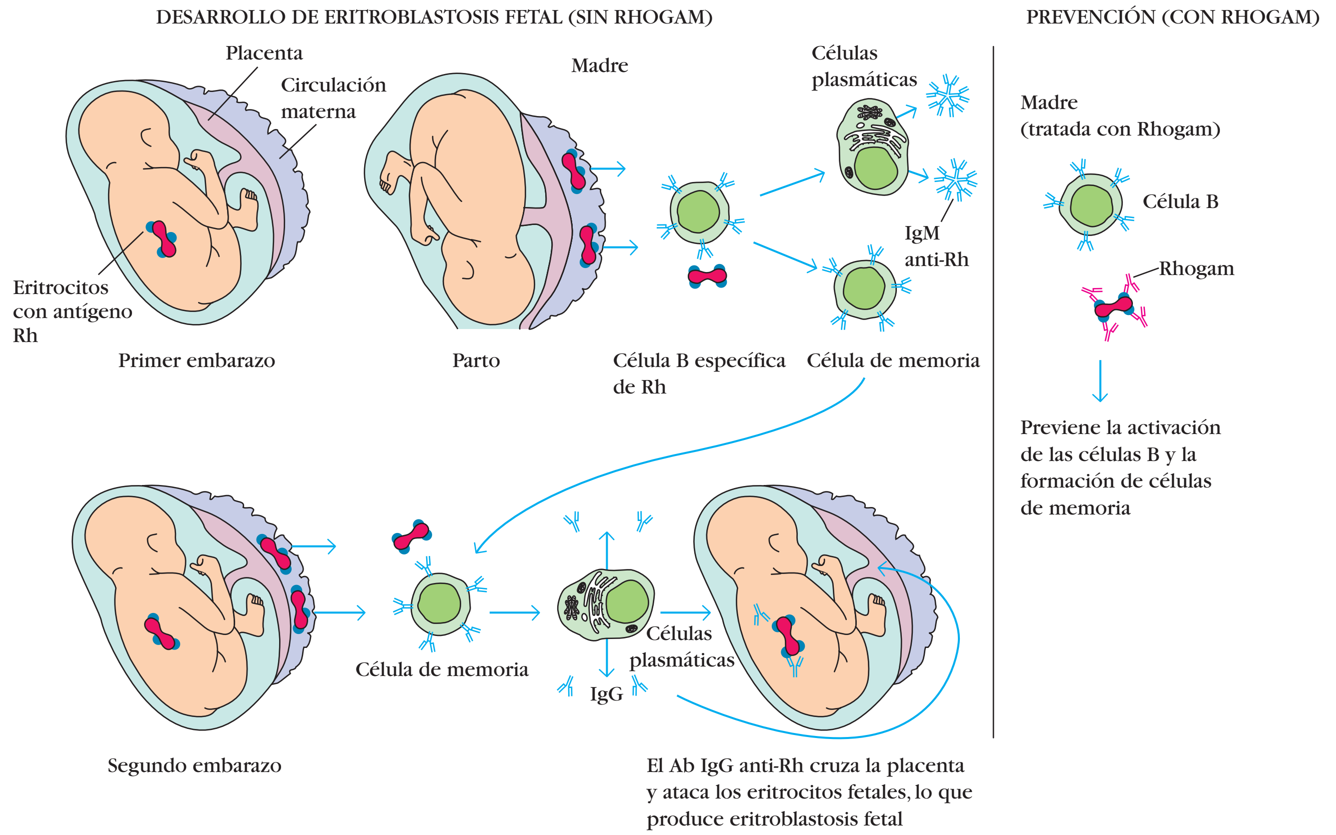

DESARROLLO DE ERITROBLASTOSIS FETAL (SIN RHOGAM)
PREVENCIÓN (CON RHOGAM)
Placenta
Circulación materna
Madre
Células plasmáticas
Eritrocitos con antígeno Rh
IgM anti-Rh
Primer embarazo
Parto
Célula B específica de Rh
Célula de memoria
Madre (tratada con Rhogam)
Célula B
Rhogam
Previene la activación de las células B y la formación de células de memoria
Célula de memoria
Células plasmáticas
IgG
Segundo embarazo
El Ab IgG anti-Rh cruza la placenta y ataca los eritrocitos fetales, lo que produce eritroblastosis fetal

FIGURA 15-14 Desarrollo de eritroblastosis fetal (enfermedad hemolítica del neonato) causada cuando una madre Rh^- porta un feto Rh^+ (*izquierda*) y efecto del tratamiento con anticuerpo anti-Rh, o Rhogam (*derecha*).

una capa de células de la placenta denominada trofoblasto. En su primer embarazo con un feto Rh^+, la mujer Rh^- no suele exponerse a suficientes eritrocitos fetales para activar sus células B específicas de este factor. Sin embargo, en el momento del parto la separación de la placenta desde la pared uterina permite que cantidades más grandes de sangre fetal ingresen por el cordón umbilical a la circulación materna. Estos eritrocitos fetales activan las células B maternas específicas del factor Rh, lo que resulta en producción de células plasmáticas y células B de memoria específicas contra este factor en la madre. El anticuerpo IgM secretado elimina los eritrocitos fetales Rh^+ de la circulación materna, pero las células de memoria permanecen, lo que constituye una amenaza para cualquier embarazo ulterior con un feto Rh^+. La activación de estas células de memoria en un embarazo subsecuente ocasiona formación de anticuerpos IgG anti-Rh, que cruzan la placenta y lesionan los eritrocitos fetales (fig. 15-14). El feto puede desarrollar anemia leve a grave, en ocasiones con consecuencias mortales. Además, la conversión de hemoglobina en bilirrubina puede plantear una amenaza adicional para el neonato, porque es posible que la bilirrubina, liposoluble, se acumule en el encéfalo y lo lesione.

La enfermedad hemolítica del neonato causada por incompatibilidad Rh en un embarazo posterior puede prevenirse casi por completo mediante la administración de anticuerpos contra el antígeno Rh a la madre durante las primeras 24 a 48 h que siguen al primer parto. Los anticuerpos anti-Rh también se administran a embarazadas después de amniocentesis. Estos anticuerpos, llamados **Rhogam**, se fijan a los eritrocitos fetales que entran en la circulación materna en el momento del parto y facilitan su depuración antes que ocurran la activación de las células B y la producción subsecuente de células de memoria. La madre que recibió tratamiento con el anticuerpo Rhogam tiene pocas probabilidades de producir anticuerpos IgG anti-Rh en un embarazo ulterior con un feto Rh^+; por tanto el feto queda protegido contra la lesión que sobreviene cuando estos anticuerpos cruzan la placenta.

El desarrollo de enfermedad hemolítica del neonato que se debe a incompatibilidad Rh puede detectarse mediante pruebas del suero materno a ciertos intervalos durante la gestación en busca de anticuerpos contra el antígeno Rh. El aumento en el título de estos anticuerpos conforme el embarazo progresa indica que la madre se expuso a los antígenos Rh y produce cantidades incrementadas de anticuerpo. La presencia de IgG materna sobre la superficie de los eritrocitos fetales puede detectarse con la prueba de Coombs. Para efectuarla se incuban eritrocitos fetales aislados con el reactivo de Coombs, que es anticuerpo de cabra contra el anticuerpo IgG humano. Si existe IgG materna fija a los eritrocitos fetales, éstos se aglutinan al entrar en contacto con el reactivo de Coombs.

Si durante el embarazo se identifica enfermedad hemolítica causada por incompatibilidad Rh, el tratamiento depende de la gravedad de la reacción. Cuando ésta es grave, el feto puede recibir una transfusión de recambio intrauterina para reemplazar sus eritrocitos Rh^+ por otros Rh^-. Estas transfusiones se administran cada 10 a 21 días hasta que llega el parto. En los casos menos graves la transfusión de recambio se administra una vez que el niño nace, con la finalidad primaria de remover la hemoglobina de la sangre circulante; el lactante también se expone a niveles bajos de radiación UV para desdoblar la bilirrubina y prevenir que sufra lesión cerebral. Asimismo la madre puede tratarse durante el embarazo mediante **plasmaféresis**. En este procedimiento se emplea un aparato separador de células para repartir la sangre de la madre en dos fracciones, células y plasma. El plasma que contiene el anticuerpo anti-Rh se descarta y las células sanguíneas se devuelven a la madre en una solución de albúmina o plasma recién extraído.

La mayor parte de los casos (65%) de enfermedad hemolítica del neonato tiene consecuencias menores y se deben a incompatibilidad de grupo sanguíneo ABO entre madre y feto. El feto de los grupos A o B que una madre del grupo O porta es el que desarrolla con más frecuencia estas reacciones. La madre del grupo O tiene la mayor probabilidad de producir anticuerpo IgG contra los antígenos de grupos sanguíneos A o B como resultado de la exposición natural a los antígenos de grupos sanguíneos A o B, o a consecuencia de la exposición a los antígenos de grupos sanguíneos A o B fetales durante embarazos sucesivos. Por lo común la anemia fetal secundaria a esta incompatibilidad es leve; su principal manifestación clínica es un aumento leve de la bilirrubina, con ictericia. Estos lactantes pueden requerir una transfusión de recambio según la gravedad de la anemia y la ictericia que experimentan. Puesto que la reacción suele ser leve, la exposición del lactante a luz UV de baja intensidad es suficiente para desdoblar la bilirrubina y evitar la lesión cerebral.

La anemia hemolítica inducida por fármacos es una reacción tipo II

Ciertos antibióticos (p. ej., penicilina, cefalosporinas y estreptomicina) pueden adsorberse de manera inespecífica a proteínas sobre las membranas de los eritrocitos y formar un complejo similar al complejo portador de hapteno. En algunos pacientes estos complejos de fármacos y proteínas inducen la formación de anticuerpos, que después se fijan al fármaco adsorbido sobre los eritrocitos e inducen lisis mediada por complemento, y por tanto anemia progresiva. La anemia hemolítica desaparece cuando la administración del fármaco se suspende. La penicilina se distingue porque puede inducir los cuatro tipos de hipersensibilidad con diferentes manifestaciones clínicas (cuadro 15-5).

CUADRO 15-5 Reacciones de hipersensibilidad inducidas por la penicilina

Tipo de reacción	Anticuerpos o linfocitos inducidos	Manifestaciones clínicas
I	IgE	Urticaria, anafilaxis sistémica
II	IgM, IgG	Anemia hemolítica
III	IgG	Enfermedad del suero, glomerulonefritis
IV	Células T_H1	Dermatitis por contacto

Hipersensibilidad mediada por inmunocomplejos (tipo III)

La reacción de anticuerpo con antígeno genera inmunocomplejos. Por lo general esta formación de complejo antígeno-anticuerpo facilita la depuración del antígeno por células fagocíticas y eritrocitos (fig. 7-15). Sin embargo, en algunos casos las grandes cantidades de inmunocomplejos pueden ocasionar reacciones de hipersensibilidad tipo III que lesionan los tejidos. La magnitud de la reacción depende de la cantidad de inmunocomplejos y de su distribución por el cuerpo. Sobreviene una reacción localizada cuando los complejos se depositan en los tejidos muy cerca del sitio de entrada del antígeno. Cuando los complejos se forman en la sangre, puede desarrollarse una reacción en todos los casos en que éstos se depositen. El depósito de complejos se observa en particular sobre las paredes de los vasos sanguíneos, en las membranas sinoviales (articulares), sobre la membrana basal glomerular (del riñón) y sobre el plexo coroideo (en el encéfalo). El depósito de estos complejos inicia una reacción que resulta en reclutamiento de neutrófilos hacia ese sitio. Los tejidos se lesionan como consecuencia de la liberación de los gránulos de los neutrófilos.

Las reacciones de hipersensibilidad tipo III ocurren cuando los inmunocomplejos activan la serie de moléculas efectoras de la inmunidad del sistema del complemento (fig. 7-2). Como se explicó en el capítulo 7, los productos del desdoblamiento del complemento C3a y C5a son anafilatoxinas que producen desgranulación localizada de los mastocitos y aumento consecuente de la permeabilidad vascular local. Los productos C3a, C5a y C5b67 también son factores quimiotácticos para los neutrófilos, que pueden acumularse en grandes números en el sitio de depósito del inmunocomplejo. Los inmunocomplejos de mayor tamaño se depositan sobre la membrana basal de los vasos sanguíneos o los glomérulos renales, en tanto que los complejos de menor tamaño pueden pasar por la membrana basal y albergarse en el subepitelio. El tipo de lesión depende del sitio en que los complejos se depositan.

La unión de los inmunocomplejos a receptores de complemento y Fc en los leucocitos conduce a la activación de una reacción inflamatoria. Gran parte de la lesión tisular en las reacciones tipo III se debe a liberación de enzimas líticas por los neutrófilos mientras intentan fagocitar los inmunocomplejos. El componente C3b del complemento actúa como opsonina y cubre los inmunocomplejos. Los neutrófilos se fijan a los inmunocomplejos cubiertos por el componente C3b por medio del receptor del complemento tipo I, que es específico del producto C3b. Como el complejo se deposita sobre la superficie de la membrana basal, la fagocitosis se impide, de modo que se liberan enzimas líticas durante los intentos fallidos de los neutrófilos de ingerir los inmunocomplejos adherentes. La activación ulterior del mecanismo de ataque membranal del sistema del complemento puede contribuir a la destrucción de los tejidos. Además, es posible que la activación del complemento induzca agregación plaquetaria, y la liberación resultante de factores de la coagulación entraña la posibilidad de que se formen microtrombos.

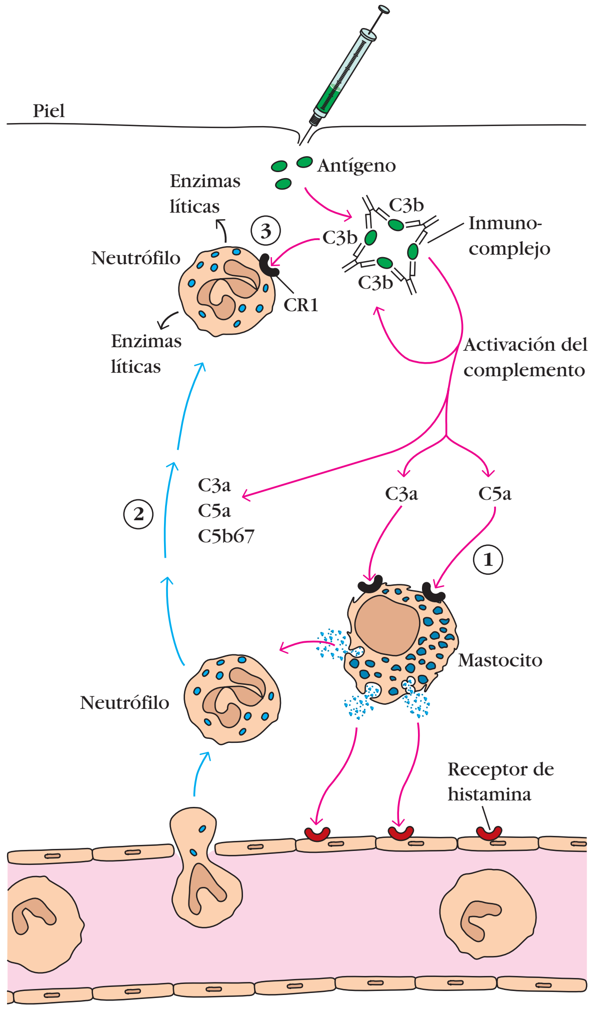


FIGURA 15-15 Desarrollo de una reacción de Arthus localizada (reacción de hipersensibilidad tipo III). La activación del complemento iniciada por inmunocomplejos (vía clásica) produce intermediarios del complemento que 1) median la desgranulación de los mastocitos, 2) ejercen atracción quimiotáctica de los neutrófilos y 3) estimulan la liberación de enzimas líticas por los neutrófilos que intentan fagocitar los inmunocomplejos cubiertos con C3b.

Las reacciones tipo III pueden ser localizadas

La inyección intradérmica o subcutánea de un antígeno a un animal que tiene concentraciones altas de anticuerpos circulantes específicos para un antígeno conduce a la formación de inmunocomplejos localizados, que median una reacción aguda de Arthus en 4 a 8 h (fig. 15-15). El examen microscópico del tejido revela neutrófilos que se adhieren al endotelio vascular y después emigran a los tejidos en el sitio de depósito de los inmunocomplejos. Conforme la reacción se desarrolla, la lesión tisular y vascular localizada ocasiona la acumulación de líquido (edema) y eritrocitos (eritema) en ese lugar. La gravedad de la reacción puede variar desde tumefacción y enrojecimiento leves hasta necrosis tisular.

Después de una picadura de insecto el individuo sensible puede experimentar una reacción localizada rápida tipo I en el sitio de la lesión. A menudo desarrolla además una reacción de Arthus típica en ese sitio 4 a 8 h después, con eritema y edema intensos. Asimismo las reacciones de Arthus intrapulmonares inducidas por esporas bacterianas, hongos o proteínas fecales secas pueden producir neumonitis o alveolitis. Estas reacciones se designan con diversos nombres comunes que reflejan el origen del antígeno. Por ejemplo, el "pulmón de granjero" se presenta después de la inhalación de actinomicetos termófilos provenientes del heno mohoso, y la "enfermedad de los criadores de palomas" se debe a inhalación de una proteína sérica que se encuentra en el polvo de las deyecciones desecadas de estas aves.

Las reacciones tipo III también pueden ser generalizadas

Cuando grandes cantidades de un antígeno entran en la sangre y se fijan a un anticuerpo, es posible que se formen inmunocomplejos circulantes. Si el antígeno es excesivo, se forman complejos pequeños; como las células fagocíticas no los depuran con facilidad pueden producir reacciones tipo III que lesionan los tejidos en diversos sitios. Históricamente con frecuencia se observaban reacciones generalizadas tipo III después de la administración de antitoxinas que contenían suero extraño, como el antitetánico o el antidiftérico de caballo. En estos casos el receptor de un antisuero extraño desarrolla anticuerpos específicos para las proteínas de ese suero; estos anticuerpos forman después inmunocomplejos circulantes con los antígenos séricos extraños. Por lo general, días o semanas después de la exposición a estos antígenos el individuo empieza a manifestar una combinación de síntomas que se denomina **enfermedad del suero** (fig. 15-16).

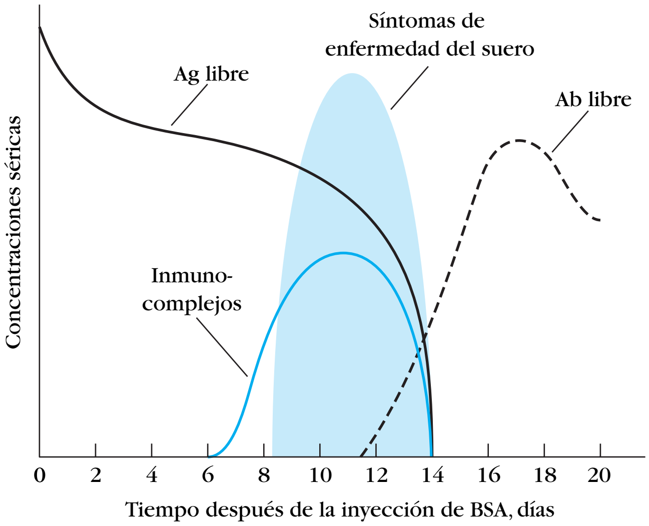


FIGURA 15-16 Correlación entre la formación de inmunocomplejos y el desarrollo de síntomas de enfermedad del suero. Se inyectó una gran dosis de antígeno (albúmina sérica bovina, BSA) a un conejo el día 0. A medida que el anticuerpo se produce, forma complejos con el antígeno que se depositaron en riñones, articulaciones y capilares. Los síntomas de enfermedad del suero (zona de tonalidad azul clara) correspondieron a la formación máxima de los inmunocomplejos. Conforme estos complejos se fueron depurando, se identificó anticuerpo circulante libre (línea negra de guiones) y los síntomas de la enfermedad cedieron. *[Basada en F. G. Germuth, Jr., 1953,* Journal of Experimental Medicine ***97****:257.]*

Tales síntomas incluyen fiebre, debilidad, vasculitis generalizada (erupciones) con edema y eritema, linfadenopatía, artritis y en ocasiones glomerulonefritis. Las manifestaciones precisas de la enfermedad del suero dependen tanto de la cantidad de inmunocomplejos como del tamaño global de éstos, aspectos que determinan el sitio de su depósito. Como ya se señaló, los sitios de depósito son variables, pero en general los complejos se acumulan en tejidos en los que ocurre filtración del plasma. Esto explica la incidencia elevada de glomerulonefritis (depósito de complejos en el riñón), vasculitis (depósito en las arterias) y artritis (depósito en las túnicas sinoviales articulares) ocasionadas por la enfermedad del suero. En la actualidad, ésta se observa más a menudo después de tratamiento con antibiótico (pero no debe confundirse con una alergia medicamentosa) y determinadas vacunas; los síntomas se presentan siete a 21 días después de la exposición inicial y posiblemente en uno a tres días en exposiciones ulteriores al mismo antígeno.

Durante todo el decenio de 1980, el posible uso de anticuerpos monoclonales como “balas mágicas” para tratar cáncer y una variedad de otras enfermedades creó mucha expectación. Sin embargo, los pacientes que recibieron anticuerpos monoclonales murinos con fines terapéuticos produjeron sus propios anticuerpos contra los anticuerpos extraños, una respuesta llamada reacción de anticuerpo humano antimurino (HAMA, del inglés *human anti-mouse antibody*), y presentaron síntomas tipo enfermedad del suero. Ahora se conoce que la inyección de los anticuerpos murinos causó una reacción generalizada tipo III; los anticuerpos terapéuticos fueron eliminados antes de que pudieran llegar siquiera a su blanco. Para evitar la reacción HAMA, los anticuerpos terapéuticos actuales se humanizan o someten a técnicas de ingeniería genética para que no sean reconocidos como ajenos, lo cual se describió antes para la terapia anti-IgE en la alergia.

La formación de inmunocomplejos circulantes contribuye a la patogénesis de diversos trastornos distintos a la enfermedad del suero. Éstos comprenden los siguientes:

- *Enfermedades autoinmunitarias*
  Lupus eritematoso sistémico
  Artritis reumatoide
  Síndrome de Goodpasture
- *Reacciones farmacológicas*
  Alergias a penicilina y sulfonamidas
- *Enfermedades infecciosas*
  Glomerulonefritis posestreptocócica
  Meningitis
  Hepatitis
  Mononucleosis
  Paludismo
  Tripanosomosis

Está demostrado que los complejos de anticuerpo con diversos antígenos bacterianos, víricos y parasitarios inducen una variedad de reacciones de hipersensibilidad tipo III como erupciones cutáneas, síntomas artríticos y glomerulonefritis. Por ejemplo, la glomerulonefritis posestreptocócica se presenta cuando complejos circulantes de anticuerpo y antígenos estreptocócicos se depositan en el riñón y dañan los glomérulos. Diversas enfermedades autoinmunitarias se deben a complejos circulantes de anticuerpos con proteínas, glucoproteínas e incluso DNA propios. En el lupus eritematoso sistémico se acumulan complejos de anticuerpos con DNA y anti-DNA en las membranas sinoviales, con producción de síntomas de artritis, o en la membrana basal del riñón, con la lesión renal progresiva consecuente.

Hipersensibilidad tipo IV o tardía (DTH)

Cuando algunas subpoblaciones de células T_H activadas se encuentran con ciertos tipos de antígenos, secretan citocinas que inducen una reacción inflamatoria localizada que se denomina **hipersensibilidad tardía** (**DTH**, del inglés *delayed-type hypersensitivity*). Esta reacción se caracteriza por una gran entrada de células inflamatorias inespecíficas al sitio, en particular macrófagos. Fue descrita en 1890 por Robert Koch, quien observó que los individuos infectados por *Mycobacterium tuberculosis* experimentaban una reacción inflamatoria localizada cuando se les inyectaba por vía intradérmica un filtrado derivado de cultivo de micobacterias. Denominó a esta reacción cutánea localizada “reacción a la tuberculina”. Más tarde, al quedar en claro que otros antígenos también pueden desencadenar esta reacción (cuadro 15-6), su nombre cambió al de hipersensibilidad tardía, de tipo retrasado o tipo IV para referirse a su inicio postergado y a la lesión tisular (hipersensibilidad) que suele acompañarla. El término *hipersensibilidad* es motivo de cierta confusión porque sugiere que las reacciones de DTH son siempre dañinas. Aunque en algunos casos estas reacciones producen lesión tisular extensa y son patológicas por sí mismas, en muchos otros la lesión de los tejidos es limitada y la reacción desempeña un papel importante en la defensa contra los agentes patógenos intracelulares y los antígenos de contacto. Las piedras angulares de la reacción tipo IV son retraso del tiempo necesario para que la reacción se desarrolle y reclutamiento de macrófagos en vez de neutrófilos, que son los reclutados en la reacción tipo III. Los macrófagos son los componentes principales de los infiltrados que rodean los sitios de inflamación.

CUADRO 15-6 Patógenos intracelulares y antígenos de contacto que inducen hipersensibilidad tardía (tipo IV)

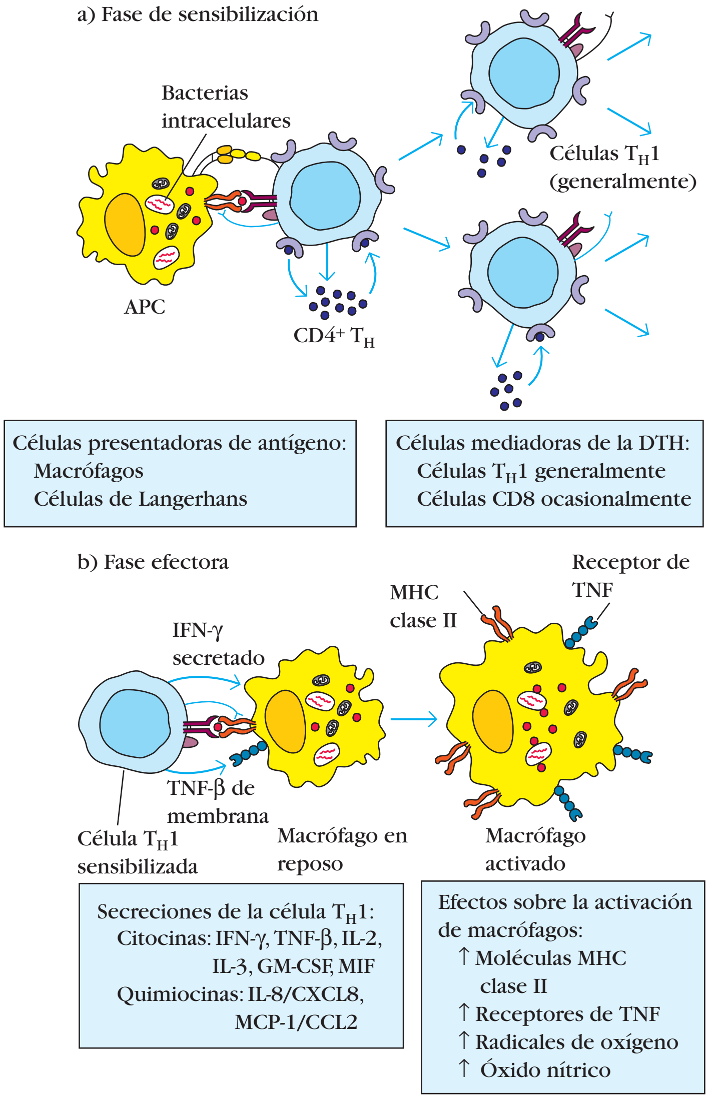
Bacterias intracelulares
  Mycobacterium tuberculosis
  Mycobacterium leprae
  Listeria monocytogenes
  Brucella abortus

Hongos intracelulares
  Pneumocystis carinii
  Candida albicans
  Histoplasma capsulatum
  Cryptococcus neoformans
Parásitos intracelulares
  Leishmania sp.

Virus intracelulares
  Virus del herpes simple
  Virus de la varicela
  Virus del sarampión

Antígenos de contacto
  Picrilcloruro
  Colorantes para el pelo
  Sales de níquel
  Hiedra venenosa
  Zumaque venenoso

FIGURA 15-17 PARA VISUALIZACIÓN DE CONCEPTOS: Reacción de DTH


a) Fase de sensibilización
Bacterias intracelulares
APC
$CD4^+$ T_H
Células T_H1 (generalmente)
Células presentadoras de antígeno:
Macrófagos
Células de Langerhans
Células mediadoras de la DTH:
Células T_H1 generalmente
Células CD8 ocasionalmente
b) Fase efectora
IFN-γ secretado
MHC clase II
Receptor de TNF
TNF-β de membrana
Célula T_H1 sensibilizada
Macrófago en reposo
Macrófago activado
Secreciones de la célula T_H1:
Citocinas: IFN-γ, TNF-β, IL-2, IL-3, GM-CSF, MIF
Quimiocinas: IL-8/CXCL8, MCP-1/CCL2
Efectos sobre la activación de macrófagos:
↑ Moléculas MHC clase II
↑ Receptores de TNF
↑ Radicales de oxígeno
↑ Óxido nítrico

a) En la fase de sensibilización después del contacto inicial con el antígeno (p. ej., péptidos derivados de las bacterias intracelulares), las células T_H proliferan y se diferencian en células T_H1. Las citocinas secretadas por estas células T están indicadas por esferas negras. b) En la fase efectora tras la exposición subsecuente de las células T_H1 sensibilizadas al antígeno, estas células secretan diversas citocinas y quimiocinas. Estos factores atraen y activan macrófagos y otras células inflamatorias inespecíficas. Los macrófagos activados son más eficaces para presentar los antígenos, por lo que perpetúan la reacción de DTH y funcionan como células efectoras primarias en esta reacción.

Existen diversas fases de la reacción de hipersensibilidad tardía

El desarrollo de la reacción de DTH inicia con una primera fase de sensibilización una a dos semanas después del contacto primario con el antígeno. Durante este período células T_H son activadas y expandidas de manera clonal por el antígeno presentado junto con la molécula MHC clase II indispensable sobre una célula presentadora de antígeno apropiada (fig. 15-17a). Se sabe que diversas células presentadoras de antígeno participan en la activación de la reacción de DTH, entre ellas células de Langerhans y macrófagos. Las primeras son células dendríticas que se encuentran en la epidermis. Se cree que captan el antígeno que entra por la piel y lo transportan hasta ganglios linfáticos regionales, en los que este antígeno activa células T. En algunas especies, inclusive la humana, las células endoteliales vasculares expresan moléculas MHC clase II y funcionan también como células presentadoras de antígeno en el desarrollo de la reacción de DTH. En general las células T que se activan durante la fase de sensibilización son $CD4^+$, sobre todo del subtipo T_H1, pero en unos cuantos casos se observa que células $CD8^+$ inducen la reacción de esta clase. Las células T activadas se denominaron antes células T_{DTH} para denotar su función en la reacción de DTH, aunque en realidad sólo constituyen un subconjunto de células T_H1 activadas (o, en algunos casos, células T_C).

La exposición subsecuente al antígeno induce la fase efectora de la reacción de hipersensibilidad tardía (fig. 15-17b). Durante esta fase las células T_H1 secretan diversas citocinas que reclutan y activan macrófagos y otras células inflamatorias inespecíficas. En condiciones normales la reacción de DTH no se evidencia sino hasta 24 h después del segundo contacto con el antígeno; en general la reacción llega a su máximo 48 a 72 h después del segundo contacto. El inicio retrasado de esta reacción refleja el tiempo requerido para que las citocinas induzcan el ingreso local de macrófagos y su activación. Una vez que una reacción tardía comienza, entra en funcionamiento una interacción compleja de células y mediadores inespecíficos que puede ocasionar una amplificación enorme. En el momento en que la reacción de hipersensibilidad tardía se desarrolla por completo, sólo 5% de las células que participan son T_H1 específicas de antígeno; las restantes son macrófagos y otras células inespecíficas.

Los macrófagos son las principales células efectoras de la reacción de DTH. Las citocinas elaboradas por las células T_H1 inducen la adhesión de los monocitos sanguíneos a las células endoteliales vasculares y su migración de la sangre a los tejidos circundantes. Los monocitos se diferencian para convertirse en macrófagos activados durante este proceso. Como se describió en el capítulo 2, los macrófagos activados muestran niveles elevados de fagocitosis y mayor capacidad de matar microorganismos mediante diversos mediadores citotóxicos. Por añadidura, los macrófagos activados expresan cantidades incrementadas de moléculas MHC clase II y moléculas de adhesión celular, y por ello funcionan con más eficacia como células presentadoras de antígeno.

La entrada y la activación de los macrófagos durante la reacción de hipersensibilidad tardía son aspectos importantes de las defensas del hospedador contra los parásitos y las bacterias que viven dentro de las células, donde los anticuerpos circulantes no pueden alcanzarlos. La actividad fagocítica intensificada y la acumulación de enzimas líticas de los macrófagos en la zona infectada ocasionan la destrucción inespecífica de células y por tanto del agente patógeno intracelular. En general, el agente patógeno se elimina con rapidez sin que ocurra lesión celular importante. Sin embargo, en algunos casos, en particular si el antígeno no se elimina con facilidad, la reacción de hipersensibilidad tardía prolongada puede volverse destructora para el hospedador cuando la reacción inflamatoria intensa se convierte en una reacción granulomatosa visible. Se desarrolla un granuloma cuando la activación continua de los macrófagos los induce a que se adhieran con firmeza entre sí, asuman una forma epitelioide y a veces se fusionen para producir células gigantes multinucleadas (fig. 15-18). Estas células gigantes desplazan las células tisulares normales, forman nódulos palpables y liberan concentraciones elevadas de enzimas líticas que destruyen el tejido circundante. En estos casos la reacción puede lesionar los vasos sanguíneos y causar necrosis tisular extensa. La respuesta a *Mycobacterium tuberculosis* ilustra cómo la reacción de DTH es un arma de dos filos. La inmunidad a esa bacteria intracelular comprende una reacción de DTH en la cual los macrófagos activados tabican el microorganismo en el pulmón y lo retienen dentro de una lesión granulomatosa denominada tubérculo. No obstante, a menudo la liberación concentrada de enzimas líticas desde los macrófagos activados que se encuentran dentro de los tubérculos produce lesión del tejido pulmonar. En el capítulo 16 se presentan algunos ejemplos de reacciones de hipersensibilidad verdaderas en que la lesión tisular supera de manera impresionante cualquier efecto benéfico.

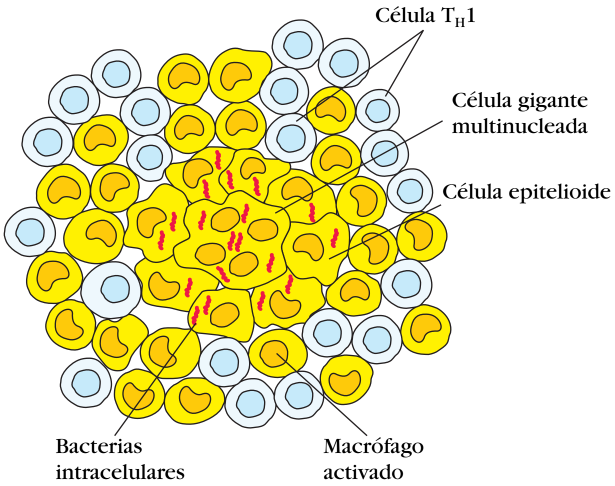


FIGURA 15-18 La reacción de hipersensibilidad tardía prolongada puede ocasionar la formación de un granuloma, una tumoración en forma de nódulo. Las enzimas líticas liberadas desde los macrófagos activados contenidos en el granuloma pueden producir lesión tisular extensa.

Numerosas citocinas participan en la reacción de hipersensibilidad tardía

Las citocinas que las células T_H1 producen incluyen varias que atraen y activan macrófagos hacia el sitio de la infección. La IL-3 y el GM-CSF inducen hematopoyesis localizada del linaje de granulocitos y monocitos. IFN-γ y TNF-β (junto con TNF-α e IL-1 derivados de macrófagos) actúan sobre las células endoteliales vecinas y promueven diversos cambios que facilitan la extravasación de monocitos y otras células inflamatorias inespecíficas. Los neutrófilos y los monocitos circulantes se fijan a las moléculas de adhesión desplegadas sobre las células endoteliales vasculares y se extravasan hacia los espacios tisulares. Los neutrófilos aparecen pronto durante la reacción, alcanzan su número máximo en unas 6 h y luego disminuyen. La infiltración de monocitos sobreviene 24 a 48 h después de la exposición al antígeno.

Conforme los monocitos ingresan en los tejidos para convertirse en macrófagos, quimiocinas como la proteína quimiotáctica y atrayente de monocitos (MCP-1/CCL2) los atraen por quimiotaxis al sitio de la reacción de hipersensibilidad tardía. Otra quimiocina denominada factor inhibidor de la migración (MIF) ejerce este efecto sobre los macrófagos para que no vayan más allá del sitio de esta reacción. Al acumularse macrófagos en este lugar, las citocinas los activan, en particular IFN-γ y TNF-β producidos por las células T_H1. Como se señaló antes, los macrófagos se vuelven más eficaces como células presentadoras de antígeno en el momento de su activación. Por tanto, los macrófagos activados pueden mediar eficazmente la activación de más células T_H1, principalmente a través de la secreción de IL-12, lo que induce la reacción de células T_H1 y desencadena de manera potente la producción de IFN-γ al tiempo que suprime el desarrollo de células T_H2. Otra citocina generada por macrófagos, la IL-18, funciona junto con la IL-12 para inducir la formación de cantidades aún mayores de IFN-γ por las células T_H1. Las células T_H1 activadas a su vez reclutan y activan más macrófagos aún. Sin embargo, esta reacción que se autoperpetúa es una espada de dos filos, con una línea muy delgada entre la reacción protectora beneficiosa y la reacción dañina caracterizada por lesión tisular extensa.

Un informe de experimentos efectuados con ratones a los que se desactivó un gen para que no produjeran IFN-γ demostró la importancia de esta citocina en la reacción de hipersensibilidad tardía. Cuando estos ratones con el gen suprimido se infectaron con una cepa atenuada de *Mycobacterium bovis* que se conoce como BCG (bacilo de Calmette Guérin), casi todos los animales murieron en 60 días, en tanto que los ratones de tipo silvestre sobrevivieron (fig. 15-19). Los macrófagos de los ratones con desactivación del gen para el IFN-γ mostraron tener concentraciones reducidas de moléculas MHC clase II y de metabolitos bactericidas como óxido nítrico y anión superóxido.

La IL-17 es otra citocina que actúa como potente mediador en reacciones de tipo tardío incrementando la producción de quimiocina en diversos tejidos para reclutar monocitos y neutrófilos en el sitio de inflamación, de modo similar a como lo hace el IFN-γ. La IL-17 es producida por células T_H, aunque aún es tema de controversia si lo hace un subconjunto de células T_H1 o un linaje completamente nuevo y separado de célula T_H generadas directamente a partir de células T $CD4^+$ vírgenes, llamadas “células T_H-17” por los adeptos a esta última teoría. Lo que se sabe es que las células identificadas de manera tentativa como células T_H-17 son inducidas por IL-23 (en lugar de la inducción de T_H1 por IL-12) y producen un perfil bien definido de citocinas, que incluye IL-17 (en oposición a IFN-γ en el caso de T_H1), la cual es la causa del daño celular destructivo en las reacciones de DTH.

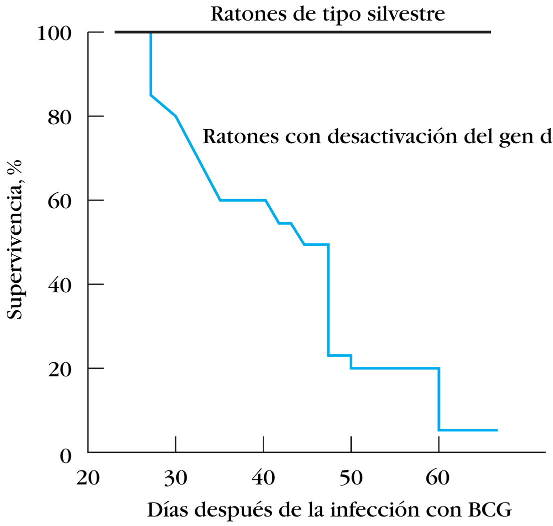


FIGURA 15-19 Demostración experimental de la función del IFN-γ en las defensas del hospedador contra patógenos intracelulares. Se produjeron ratones con desactivación del gen que codifica IFN-γ mediante la introducción de una mutación dirigida en éste. A continuación estos ratones se infectaron con 10^7 unidades formadoras de colonias de *Mycobacterium bovis* atenuado (BCG) y se vigiló su supervivencia. *[Adaptada de D. K. Dalton et al., 1993,* Science ***259:****1739.]*

La reacción de hipersensibilidad tardía se identifica con una prueba cutánea

La presencia de una reacción de hipersensibilidad tardía puede medirse experimentalmente mediante la inyección intradérmica de antígeno a un animal y la observación para determinar si se desarrolla una lesión cutánea característica en el sitio inyectado. La reacción cutánea positiva indica que el animal cuenta con una población de células T_H1 sensibilizadas específicas para el antígeno de prueba. Por ejemplo, para saber si una persona se expuso a *M. tuberculosis* se le inyecta por vía intradérmica PPD, un derivado proteínico de la pared celular de este microorganismo. El desarrollo de una lesión roja firme un poco tumefacta en el sitio luego de 48 a 72 h indica exposición previa. La lesión cutánea es resultado de infiltración intensa de células en el sitio de inyección de la proteína mencionada durante una reacción de hipersensibilidad tardía; 80 a 90% de estas células corresponde a macrófagos. No obstante, recuérdese que la prueba positiva no permite concluir si la exposición fue a una forma patógena de *M. tuberculosis* o a una forma del microorganismo de vacuna recibida por inmunización, que se practica en algunas partes del mundo.

La dermatitis por contacto es un tipo de reacción de hipersensibilidad tardía

Muchas reacciones de dermatitis por contacto, entre otras las respuestas a formaldehído, trinitrofenol, níquel, trementina y agentes activos de diversos cosméticos y colorantes para el pelo, zumaque venenoso y hiedra venenosa, son mediadas por células T_H1. Casi todas estas sustancias son moléculas pequeñas que pueden formar complejos con proteínas de la piel. Estos complejos se internan en células presentadoras de antígeno que se encuentran en la piel (p. ej., células de Langerhans) y luego se procesan y presentan junto con moléculas MHC clase II, lo que produce activación de células T_H1 sensibilizadas. En la reacción al zumaque venenoso, por ejemplo, un compuesto pentadecacatecólico de las hojas de esta planta forma un complejo con proteínas cutáneas. Cuando las células T_H reaccionan con este compuesto expresado de manera apropiada por células presentadoras de antígeno, se diferencian en células T_H1 sensibilizadas. La exposición subsecuente al pentadecacatecol desencadena la activación de las células T_H1 e induce la producción de citocinas (fig. 15-20). Alrededor de 48 a 72 h después de la primera exposición las citocinas secretadas causan acumulación de macrófagos en el sitio. La activación de estos macrófagos y la liberación de enzimas líticas producen el enrojecimiento y las pústulas característicos de la reacción al zumaque venenoso.

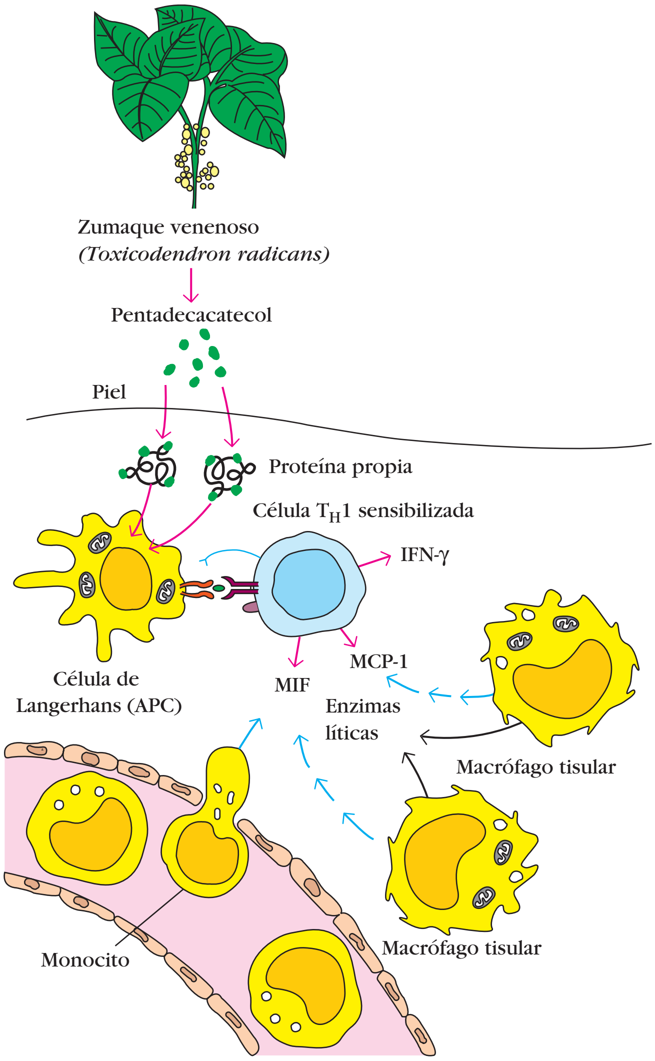


FIGURA 15-20 Desarrollo de una reacción de sensibilidad tardía (tipo IV) después de una segunda exposición al zumaque venenoso. Citocinas como IFN-γ, proteína quimiotáctica de monocitos (MCP-1) y factor inhibidor de la migración (MIF) liberadas desde las células T_H1 sensibilizadas median esta reacción. La lesión tisular es resultado de la acción de enzimas líticas liberadas por los macrófagos activados.

RESUMEN

- Las reacciones de hipersensibilidad son reacciones inflamatorias pertenecientes a las ramas humoral o mediada por células del sistema inmunitario que producen lesión tisular extensa e incluso la muerte. Los cuatro tipos de reacción de hipersensibilidad generan moléculas efectoras y manifestaciones clínicas características.
- La reacción de hipersensibilidad tipo I es mediada por anticuerpos IgE cuya región Fc se fija a receptores sobre los mastocitos o los basófilos que circulan en la sangre. El enlace cruzado de la IgE fija mediante alergeno ocasiona la desgranulación de los mastocitos o los basófilos con liberación de mediadores con actividad farmacológica. Los principales efectos de estos mediadores son contracción del músculo liso y vasodilatación. Las manifestaciones clínicas de las reacciones tipo I comprenden anafilaxis sistémica amenazadora para la vida y reacciones localizadas como fiebre del heno y asma.
- Una reacción de hipersensibilidad tipo II ocurre cuando un anticuerpo reacciona con determinantes antigénicos presentes sobre superficies celulares, con producción de lesión o muerte celulares por lisis mediada por complemento o citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo (ADCC). Las reacciones por transfusión de sangre y la enfermedad hemolítica del recién nacido son reacciones tipo II.
- Las reacciones de hipersensibilidad tipo III están mediadas por formación de inmunocomplejos y activación consecuente del complemento. Los productos del desdoblamiento del complemento funcionan como moléculas efectoras de la inmunidad que desencadenan vasodilatación localizada y atraen de manera quimiotáctica neutrófilos. El depósito de inmunocomplejos cerca del sitio de ingreso del antígeno puede inducir una reacción de Arthus, en la cual las enzimas líticas liberadas por los neutrófilos acumulados y el complejo de ataque a membrana del complemento producen lesión tisular localizada.
- La reacción de hipersensibilidad tipo IV comprende la rama del sistema inmunitario mediada por células. La activación por antígeno de las células T_H1 sensibilizadas induce liberación de diversas citocinas que hacen que se acumulen macrófagos y se activen. El efecto neto de la activación de los macrófagos es la liberación de enzimas líticas que producen lesión tisular localizada.

Bibliografía

American Lung Association, Epidemiology & Statistics Unit, Research and Program Services. May 2005. Trends in asthma morbidity and mortality. http://www.lungusa.org/

Aubry, J. P., et al. 1992. CD21 is a ligand for CD23 and regulates IgE production. *Nature* **358:**505.

Barnes, K. C., and D. G. Marsh. 1998. The genetics and complexity of allergy and asthma. *Immunology Today* **19:**325.

Borish, L. 1999. Genetics of allergy and asthma. *Annals of Allergy, Asthma, and Immunology* **82:**413.

Breiteneder, H., and O. Scheiner. 1998. Molecular and immunological characteristics of latex allergens. *International Archives of Allergy and Immunology* **116:**83.

Busse, W., and W. Neaville. 2001. Anti-immunoglobulin E for the treatment of allergic disease. *Current Opinion in Allergy and Immunology* **1:**105.

Chang, T. W. 2000. The pharmacological basis of anti-IgE therapy. *Nature Biotechnology* **18:**157.

Cohn, L., J. A. Elias, and G. L. Chupp. 2004. Asthma: mechanisms of disease persistence and progression. *Annual Review of Immunology* **22:**789.

Galli, S. J., et al. 2005. Mast cell as "tunable" effector and immunoregulatory cells: recent advances. *Annual Review of Immunology* **23:**749.

Gould, H. J., et al. 2003. The biology of IgE and the basis of allergic disease. *Annual Review of Immunology* **21:**579.

Jonkers, R. E., and J. S. van der Zee. 2005. Anti-IgE and other new immunomodulation-based therapies for allergic asthma. *Netherlands Journal of Medicine* **63:**121.

Kuhn, R., K. Rajewsky, and W. Muller. 1991. Generation and analysis of interleukin-4 deficient mice. *Science* **254:**707.

Marsh, D. G., et al. The Collaborative Study on the Genetics of Asthma (CSGA). 1997. A genome-wide search for asthma susceptibility loci in ethnically diverse populations. *Nature Genetics* **15:**389.

Nakae, S., et al. 2002. Antigen-specific T cell sensitization is impaired in IL-17-deficient mice, causing suppression of allergic cellular and humoral responses. *Immunity* **17:**375.

Novak, N., S. Kraft, and T. Bieber. 2001. IgE receptors. *Current Opinion in Immunology* **13:**721.

Oda, T., et al. 2000. Molecular cloning and characterization of a novel type of histamine receptor preferentially expressed in leukocytes. *Journal of Biological Chemistry* **275:**36781.

Ono, S. J. 2000. Molecular genetics of allergic diseases. *Annual Review of Immunology* **18:**347.

Park, H., et al. 2005. A distinct lineage of CD4 T cells regulates tissue inflammation by producing interleukin 17. *Nature Immunology* **6:**1133.

Romagnani, S. 2001. T-cell responses in allergy and asthma. *Current Opinion in Allergy and Clinical Immunology* **1:**73.

Rosenstreich, D. L., et al. 1997. The role of cockroach allergy and exposure to cockroach allergen in causing morbidity among inner-city children with asthma. *New England Journal of Medicine* **336:**1356.

Szabo, S. J., et al. 2003. Molecular mechanism regulating T_H1 immune responses. *Annual Review of Immunology* **21:**713.

Ulrich, B., and J. Rivera. 2004. The ins and outs of IgE-dependent mast-cell exocytosis. *Trends in Immunology* **25:**266.

Van Eerdewegh, P., et al. 2002. Association of the ADAM33 gene with asthma and bronchial hyper-responsiveness. *Nature* **418:**426.

Young, R. P., et al. 1992. House dust mite sensitivity: interaction of genetics and allergen dosage. *Clinical and Experimental Allergy* **22:**205.

Sitios útiles de la red

http://www.niaid.nih.gov/

Página del National Institute of Allergy and Infectious Diseases. El NIAID es la institución de los NIH que patrocina la investigación de enfermedades infecciosas. Su sitio web ofrece diversos enlaces con otras páginas importantes.

http://www.accai.org/

Sitio manejado por el American College of Allergy, Asthma & Immunology. Una excelente fuente de información para el paciente respecto a muchas alergias. Esta página contiene muchos enlaces valiosos.

http://www.aaaai.org/

Página Web de la American Academy of Allergy, Asthma and Immunology. Buen lugar para explorar los numerosos aspectos del asma.

Preguntas de estudio

PREGUNTA DE ENFOQUE CLÍNICO Describa de qué manera la IL-4 y el FcεRIb son excelentes genes candidatos para participar en la susceptibilidad genética al asma.

1. Indique si cada una de las afirmaciones que siguen es verdadera o falsa. Si cree que una afirmación es falsa, explique el motivo.
    a. Los ratones infectados por *Nippostrongylus brasiliensis* muestran producción disminuida de IgE.
    b. La IL-4 reduce la producción de IgE por las células B.
    c. La etapa inicial del proceso de desgranulación de los mastocitos es el enlace cruzado de los receptores Fc.
    d. Los antihistamínicos son eficaces para el tratamiento de la hipersensibilidad tipo III.
    e. La mayor parte de los alergenos del polen contiene un componente alergénico único.
    f. Los lactantes pueden adquirir alergias mediadas por IgE mediante transferencia pasiva de anticuerpo materno.
    g. Las reacciones transfusionales son manifestaciones de hipersensibilidad tipo II.
    h. La IgE se encuentra unida a los mastocitos aunque no haya antígeno presente.
    i. Tanto eosinófilos como mastocitos son mediadores importantes de las reacciones alérgicas.
    j. Las células T_H1 liberan citocinas que incrementan la producción de eosinófilos y mastocitos en la médula ósea.
    k. Los mastocitos participan en la reacción tardía del asma.
    l. La reacción de roncha y rubor es típica de una respuesta temprana en la hipersensibilidad tipo I.
    m. El humo causa inflamación de los tejidos pulmonares.
    n. Se piensa que las inyecciones contra la alergia funcionan incrementando la reacción de T_H2 en individuos alérgicos.
2. En un ejercicio de laboratorio de inmunología usted estudia la reacción de ratones a los que se inyectaron por vía intradérmica anticuerpos completos contra el receptor Fc de la IgE (FcεRI) o fragmentos Fab de dichos anticuerpos.
    a. Prediga la reacción esperada con cada tipo de anticuerpo.
    b. ¿Las reacciones observadas dependerían de que los ratones fueran alérgicos? Explique por qué.
3. Puede ocurrir enfermedad del suero cuando un individuo recibe una gran dosis de antisuero como antitoxina de ratón contra el veneno de serpiente. ¿Cómo se podrían aprovechar los progresos tecnológicos recientes para producir una antitoxina que no causara enfermedad del suero en los pacientes que la recibieran?
4. ¿Qué mecanismos inmunitarios explicarían con más claridad el caso de la persona que desarrolla cada una de las siguientes reacciones después de la picadura de un insecto?
    a. Uno o 2 min después de la picadura, se presentan tumefacción y enrojecimiento en el sitio, que desaparecen luego de 1 h.
    b. Tras 6 a 8 h, aparecen tumefacción y enrojecimiento que persisten durante 24 h.
    c. Después de 72 h, el tejido se inflama y ocurre necrosis tisular.

5. Indique a qué tipos de reacciones de hipersensibilidad (I a IV) se aplican las siguientes características. Cada característica puede aplicarse a un tipo o más de un tipo de reacción.
   a. Es una defensa importante contra los agentes patógenos intracelulares.
   b. Puede inducirla la penicilina.
   c. Incluye la histamina como mediador de importancia.
   d. Puede ser inducida por zumaque venenoso en individuos sensibles.
   e. Puede producir síntomas de asma.
   f. Se produce como reacción a transfusión de sangre incompatible.
   g. La forma sistémica de la reacción se trata con adrenalina.
   h. Los pólenes y ciertos alimentos pueden inducirla en individuos sensibles.
   i. Puede consistir en destrucción celular por citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo.
   j. Forma de manifestación clínica que se previene mediante Rhogam.
   k. Forma localizada que se caracteriza por reacción de roncha y rubor.

6. En el siguiente cuadro indique si cada suceso inmunitario se produce (+) o no se produce (−) en cada tipo de reacción de hipersensibilidad.

	Hipersensibilidad			
Suceso inmunitario	**Tipo I**	**Tipo II**	**Tipo III**	**Tipo IV**
Desgranulación de mastocitos mediada por IgE				
Lisis por complemento de eritrocitos cubiertos con anticuerpo				
Destrucción tisular como reacción al zumaque venenoso				
Desgranulación de mastocitos mediada por C3a y C5a				
Quimiotaxis de neutrófilos				
Quimiotaxis de eosinófilos				
Activación de macrófagos por IFN-γ				
Depósito de complejos antígeno-anticuerpo sobre las membranas basales de los capilares				
Muerte repentina por colapso vascular (choque) poco después de la inyección o la ingestión de un antígeno				

7. Describa la reacción de hipersensibilidad tipo II que puede ocurrir en un lactante Rh$^+$ de una madre Rh$^-$.

8. Las hipersensibilidades tipo III se caracterizan por depósito de inmunocomplejos. Describa las consecuencias clínicas del depósito de inmunocomplejos.

9. Cuando un alergeno se fija a IgE unida a FcεRI en mastocitos, los receptores experimentan la formación de enlaces cruzados, de lo que resulta una cascada de transducción de señales que conduce a la desgranulación. Para cada uno de los siguientes componentes de la cascada de transducción de señales, conecte cada uno de los procesos de producción/activación de la izquierda con sus consecuencias celulares de la derecha.

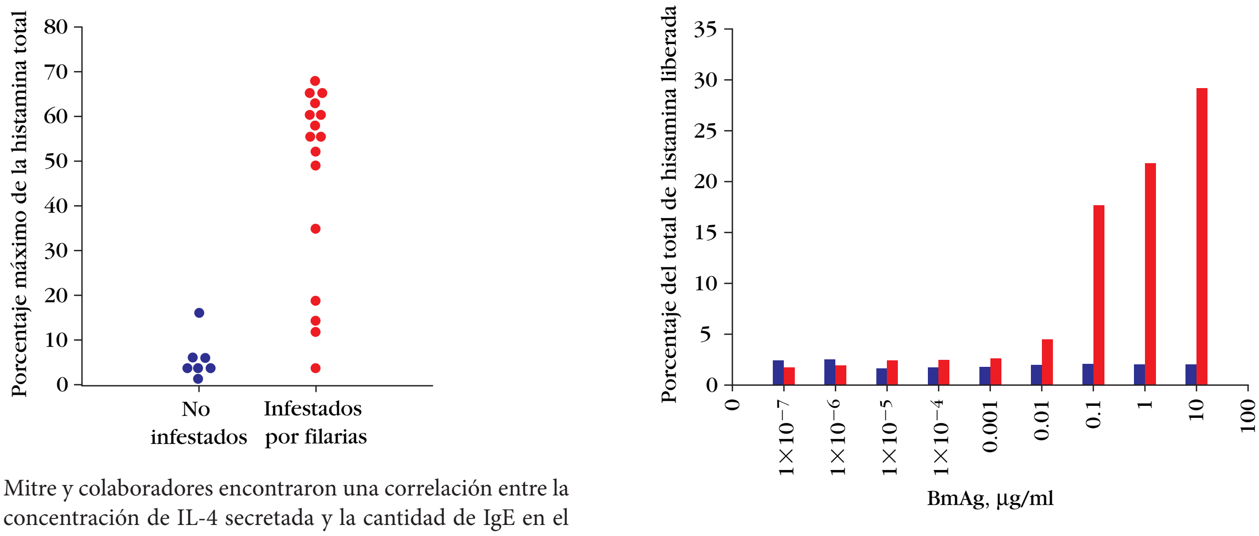
Producción o activación	*Consecuencias celulares*
a. Aumento intracelular del calcio	1. Tumefacción de gránulos y fusión con membrana plasmática
b. Adenilciclasa	2. Formación de fosfatidilcolina
c. Enzimas metiltransferasa de fosfolípido I y II	3. Producción de diacilglicerol y trifosfato de inositol
d. Fosfolipasa C	4. Activación de cinasa de proteína C
e. Tirosincinasa de proteína	5. Formación de AMP cíclico
f. Fosfatidilcolina	6. Aumento de la fluidez de membrana
g. Diacilglicerol	7. Activación de fosfolipasa C

10. Describa la diferencia entre las fases temprana y tardía del asma.

11. Llene los espacios en blanco con los términos apropiados: una madre Rh$^-$ recibe ____________ cuando su feto es Rh$^+$. Si desarrolla un título contra antígeno Rh$^-$, el bebé podría nacer con ____________.

ANALICE LOS DATOS Edward Mitre y colaboradores (2004, *J. Immunol.* **172:**2439) investigaron las funciones de los basófilos en las infestaciones por filarias y las reacciones de hipersensibilidad de los hospedadores. Las infestaciones por helmintos a menudo desafían la resistencia del hospedador. Los investigadores observaron la cantidad de histamina liberada por los basófilos en sangre entera de individuos sanos e infestados [parte (a) de la figura de la página siguiente]. También observaron la dosis de antígeno que inducía la liberación de histamina [parte (b) de la figura].

a. ¿Qué tipo de reacción de hipersensibilidad manifiestan las personas infestadas?
b. ¿Por qué se usa la histamina para medir la reacción? Si no se dispone de un ensayo para medir histamina, ¿cómo podría cuantificarse la reacción de un hospedador a la administración de BmAg?
c. Describa el isotipo de isoglobulina que se aislaría de la superficie de los basófilos si se analizaran las células.
d. Los datos de la parte (b) muestran que los basófilos reaccionan al antígeno de manera dependiente de la dosis. ¿Qué ocurre en la superficie de los basófilos que induce la reacción? ¿Qué ocurre intracelularmente en respuesta a ese proceso?
e. Explique por qué esperaría o no esperaría encontrar eosinófilos en individuos infestados por filaria.
f. ¿Induce la infestación por filaria una reacción humoral? Explique su respuesta.



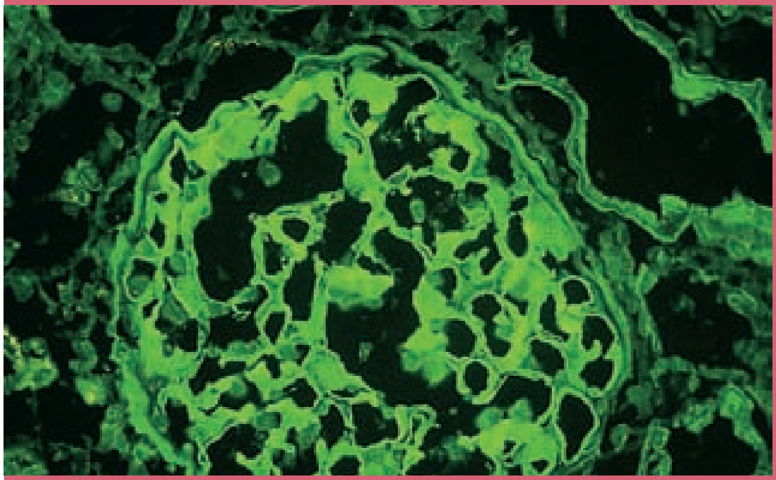
a) Cantidad máxima de histamina liberada por basófilos como porcentaje del total de histamina liberada

b) Cantidad promedio de histamina liberada contra dosis de antígeno de *Brugia malayi* (BmAg)

g. Mitre y colaboradores encontraron una correlación entre la concentración de IL-4 secretada y la cantidad de IgE en el suero de pacientes infectados. ¿Qué tipo de célula T colaboradora participa en esta reacción? ¿Por qué ésta suprimiría una secreción de IFN-γ?

capítulo 16

Tolerancia y autoinmunidad



Biopsia renal de un caso de síndrome de Goodpasture. [Tomada de Web Path, cortesía de E. C. Klatt, University of Utah.]

- Establecimiento y mantenimiento de la tolerancia
- Enfermedades autoinmunitarias específicas de órganos
- Enfermedades autoinmunitarias sistémicas
- Modelos animales de enfermedades autoinmunitarias
- Pruebas de la participación de células T CD4^{+}, MHC y TCR en la autoinmunidad
- Mecanismos propuestos para la inducción de autoinmunidad
- Tratamiento de las enfermedades autoinmunitarias

A principios del siglo XX Paul Ehrlich se percató de que el sistema inmunitario podía fallar y, en vez de reaccionar sólo contra los antígenos extraños, enfocar su ataque en antígenos propios. Esta situación, que él denominó “horror autotóxico”, puede dar por resultado varias enfermedades crónicas y agudas, como artritis reumatoide, esclerosis múltiple, lupus eritematoso y determinados tipos de diabetes. Dicho en términos simples, estas enfermedades se deben a incapacidad de los sistemas inmunitarios humoral y celular del hospedador de distinguir lo propio de lo ajeno, de lo que resulta el ataque de células y órganos propios por autoanticuerpos y células T autorreactivas. Existen varios mecanismos que protegen al individuo contra linfocitos potencialmente autorreactivos; se les da el nombre general de **tolerancia**. Un mecanismo primario denominado **tolerancia central** elimina clonas de células T o B antes de que las células maduren si poseen receptores que reconocen antígenos propios con afinidad mayor que un nivel bajo de afinidad umbral. La tolerancia central se presenta en los órganos linfoides primarios, la médula ósea y el timo (fig. 16-1a). Dado que la tolerancia central no es perfecta y algunos linfocitos autorreactivos logran llegar a los tejidos linfoides periféricos, existen salvaguardas adicionales para limitar su actividad. Entre estas precauciones de apoyo se incluye la **tolerancia periférica**, que torna inactivos o anérgicos a los linfocitos presentes en tejidos linfoides secundarios (fig. 16-1b). La posibilidad de daño por linfocitos autorreactivos es limitada aún más por el lapso de vida de los linfocitos activados, el cual es regulado por programas que inducen la muerte celular (apoptosis) de los receptores de las señales. A pesar de este sistema de regulación estratificado, en ocasiones se activan clonas autorreactivas de células T o B, que generan reacciones humorales o mediadas por células contra antígenos propios. Tal reacción inapropiada del sistema inmunitario contra componentes propios se denomina **autoinmunidad**. Las reacciones autoinmunitarias pueden causar daño grave a células y órganos, algunas veces con consecuencias letales.

En algunos casos la lesión de células u órganos propios es producida por anticuerpos; en otros casos las causantes son las células T. Por ejemplo, una forma frecuente de autoinmunidad es la lesión tisular por mecanismos semejantes a los de las reacciones de hipersensibilidad del tipo II. Como se señaló en el capítulo 15, las reacciones de hipersensibilidad del tipo II se caracterizan por destrucción de células mediada por anticuerpo. La anemia hemolítica autoinmunitaria es un ejemplo excelente de enfermedad autoinmunitaria de este tipo. En ella los autoanticuerpos reconocen los antígenos que se encuentran sobre los eritrocitos, lo que da por resultado destrucción de estas células, que a su vez culmina en anemia. Los autoanticuerpos son también los agentes dañinos principales en la tiroiditis de Hashimoto, en la que anticuerpos reactivos con antígenos tisulares específicos como peroxidasa tiroidea y tiroglobulina producen destrucción tisular grave. En el cuadro 16-1 se enumeran otras enfermedades autoinmunitarias en las que actúan autoanticuerpos.

Muchas enfermedades autoinmunitarias se caracterizan por destrucción tisular mediada en forma directa por células T. Un ejemplo bien conocido es la artritis reumatoide, en la que células T autorreactivas atacan los tejidos articulares y causan una reacción inflamatoria cuyas consecuencias son tumefacción

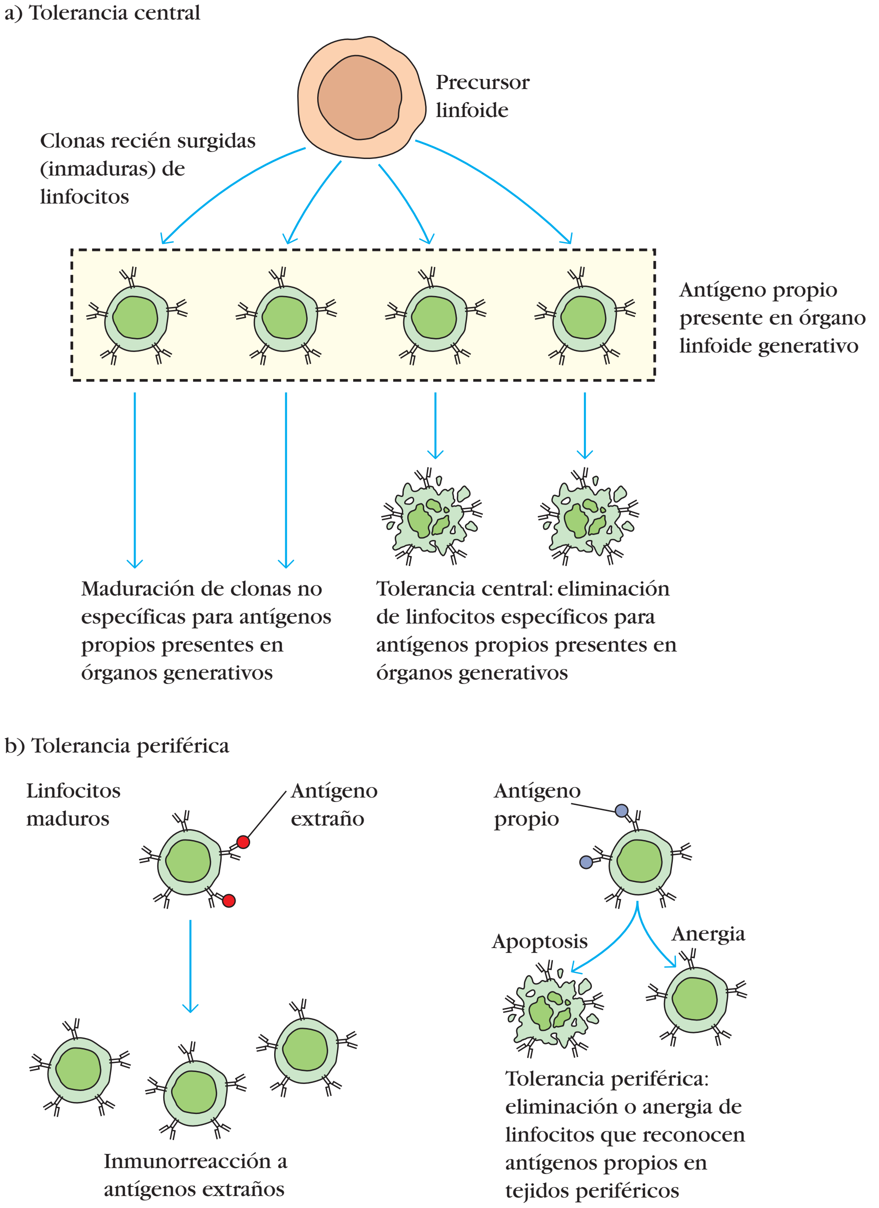

a) Tolerancia central
Precursor linfoide
Clonas recién surgidas (inmaduras) de linfocitos
Antígeno propio presente en órgano linfoide generativo
Maduración de clonas no específicas para antígenos propios presentes en órganos generativos
Tolerancia central: eliminación de linfocitos específicos para antígenos propios presentes en órganos generativos
b) Tolerancia periférica
Linfocitos maduros
Antígeno extraño
Antígeno propio
Apoptosis
Anergia
Inmunorreacción a antígenos extraños
Tolerancia periférica: eliminación o anergia de linfocitos que reconocen antígenos propios en tejidos periféricos

FIGURA 16-1 Tolerancia central y periférica. a) La tolerancia central se establece por eliminación de linfocitos que poseen receptores que reaccionan con antígenos en los órganos linfoides primarios: timo para las células T y médula ósea para las células B. b) En la tolerancia periférica se eliminan o tornan anérgicos los linfocitos que poseen receptores que reaccionan con antígenos propios. Este proceso ocurre en los órganos linfoides secundarios.

y destrucción tisulares. Otros ejemplos incluyen la diabetes mellitus dependiente de insulina (insulinodependiente) y la esclerosis múltiple (cuadro 16-1).

En este capítulo se describen primero los mecanismos generales para limitar la reactividad autoinmunitaria mediante la conservación de la tolerancia a antígenos propios. Se describen algunas enfermedades autoinmunitarias del ser humano que resultan de fallos de estos mecanismos. Pueden clasificarse en dos categorías amplias: enfermedades autoinmunitarias específicas de órganos y enfermedades autoinmunitarias sistémicas (cuadro 16-1). Tales enfermedades afectan a 5 a 7% de la población humana y a menudo ocasionan estados debilitantes crónicos. Se describen también algunos modelos animales de experimentación empleados para estudiar la autoinmunidad y diversos mecanismos que pueden contribuir a la inducción de las reacciones autoinmunitarias, así como tratamientos actuales y experimentales para las enfermedades causadas por autoinmunidad.

Establecimiento y mantenimiento de la tolerancia

Las distintas capas o estratos de protección impuestos por el sistema inmunitario para prevenir la reacción de sus células y anticuerpos contra componentes del hospedador y el inicio de enfermedad autoinmunitaria se agrupan bajo el encabezado general de **tolerancia**, que se define como un estado de falta de respuesta a un antígeno. Los mecanismos que median esta falta de respuesta pueden variar. En circunstancias normales, el encuentro del sistema inmunitario con un antígeno lleva a una inmunorreacción, pero la presentación del antígeno en alguna forma alterna puede causar tolerancia o falta de respuesta del sistema (fig. 16-2). Los antígenos que inducen tolerancia se denominan **tolerógenos** en lugar de *inmunógenos*. Los mismos compuestos químicos pueden ser tanto inmunógenos como

CUADRO 16-1 Algunas enfermedades autoinmunitarias del ser humano

Enfermedad	Autoantígeno	Reacción inmunitaria
	ENFERMEDADES AUTOINMUNITARIAS ESPECÍFICAS DE ÓRGANOS	
Enfermedad de Addison	Células suprarrenales	Autoanticuerpos
Anemia hemolítica autoinmunitaria	Proteínas de la membrana eritrocítica	Autoanticuerpos
Síndrome de Goodpasture	Membranas basales renales y pulmonares	Autoanticuerpos
Enfermedad de Graves	Receptor de hormona estimulante del tiroides	Autoanticuerpo (estimulante)
Tiroiditis de Hashimoto	Proteínas y células tiroideas	Células T_H1, autoanticuerpos
Púrpura trombocitopénica idiopática	Proteínas de la membrana plaquetaria	Autoanticuerpos
Diabetes mellitus insulinodependiente	Células β pancreáticas	Células T_H1, autoanticuerpos
Miastenia grave	Receptores de acetilcolina	Autoanticuerpo (bloqueador)
Infarto miocárdico	Corazón	Autoanticuerpos
Anemia perniciosa	Células parietales gástricas; factor intrínseco	Autoanticuerpo
Glomerulonefritis posestreptocócica	Riñón	Complejos antígeno-anticuerpo
Esterilidad autoinmunitaria	Espermatozoides	Autoanticuerpos
	ENFERMEDADES AUTOINMUNITARIAS SISTÉMICAS	
Espondilitis anquilosante	Vértebras	Inmunocomplejos
Esclerosis múltiple	Cerebro o sustancia blanca	Células T_H1 y T_C, autoanticuerpos
Artritis reumatoide	Tejido conjuntivo, IgG	Autoanticuerpos, inmunocomplejos
Esclerodermia	Núcleos, corazón, pulmones, conducto gastrointestinal, riñón	Autoanticuerpos
Síndrome de Sjögren	Glándulas salivales, hígado, riñón, tiroides	Autoanticuerpos
Lupus eritematoso sistémico (SLE)	DNA, proteína nuclear, membranas eritrocíticas y plaquetarias	Autoanticuerpos, inmunocomplejos

tolerógenos, dependiendo del modo en que sean presentados al sistema inmunitario. Por ejemplo, si un antígeno es presentado a células T sin coestimulación apropiada se produce una forma de tolerancia conocida como anergia, mientras que el mismo antígeno presentado con moléculas coestimulatorias puede convertirse en un potente inmunógeno. Entre los factores que promueven la tolerancia en lugar de la estimulación del sistema inmunitario por un antígeno dado se incluyen los siguientes:

- Dosis altas de antígeno
- Persistencia del antígeno en el hospedador
- Introducción por vía intravenosa u oral
- Ausencia de coadyuvantes
- Bajas concentraciones de coestimuladores

Está bien documentado que los antígenos introducidos oralmente pueden inducir tolerancia, mientras que el mismo antígeno administrado en una inyección intradérmica o subcutánea puede ser inmunógeno. Resulta notable el hecho de que la tolerancia es específica de antígeno: la desactivación de una inmunorreacción por tolerancia no da por resultado una inmunosupresión general, sino que es específica para el antígeno tolerógeno.

En el decenio de 1960, los investigadores creían que todos los linfocitos autorreactivos se eliminaban durante su desarrollo en la médula ósea y el timo, y que la incapacidad de eliminar estos linfocitos tenía consecuencias autoinmunitarias. Pruebas experimentales más recientes han refutado esta creencia. Se demostró que los sujetos sanos normales poseen linfocitos autorreactivos recirculantes maduros. Dado que la presencia de estos linfocitos autorreactivos en la periferia no da por resultado de manera inevitable reacciones autoinmunitarias, su actividad en individuos normales debe ser regulada por otros mecanismos. Entre los medios para mantener la tolerancia se incluyen inducción de muerte celular o anergia celular y de limitaciones en la actividad de las células T por medio de células T_{reg}.

La tolerancia central limita el desarrollo de células T y B autorreactivas

El mecanismo dominante para mantener la tolerancia es la deleción al principio de la maduración de clonas de linfocitos que podrían reaccionar con componentes propios. Consideremos los mecanismos que generan diversidad en los receptores de célula T o de célula B. Como se expone en los capítulos 5 y 9, los reordenamientos genéticos que dan origen a TCR o Ig funciona-

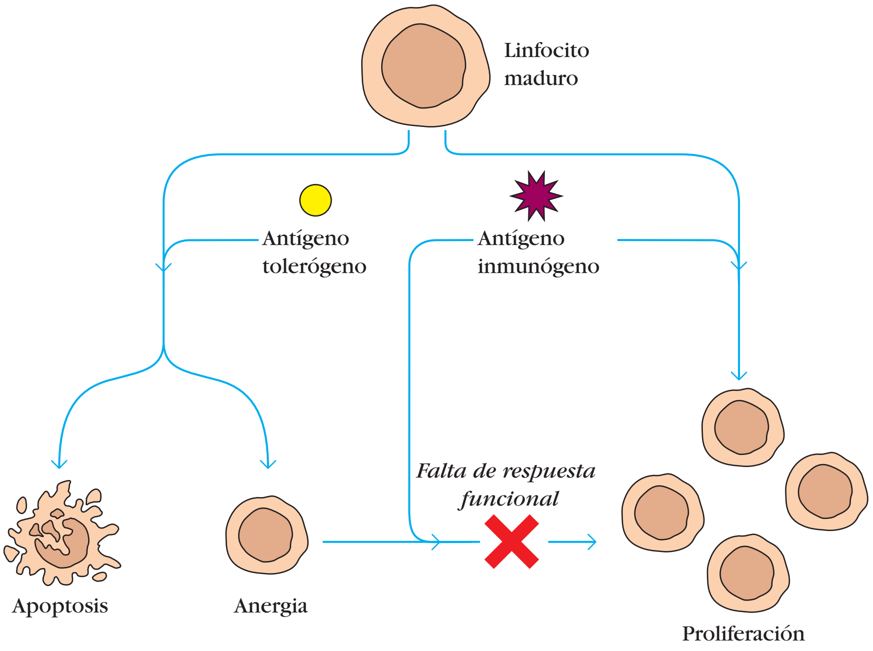


FIGURA 16-2 Un antígeno puede ser inmunógeno o tolerógeno, dependiendo de una variedad de factores entre los que se incluyen dosis y vía de exposición. Los encuentros tolerógenos con antígenos dan por resultado eliminación de los linfocitos reactivos, usualmente por apoptosis, o inducción de un estado de anergia. La exposición inmunógena causa la activación y proliferación del linfocito reactivo.

les ocurren a través de un proceso por el cual cualquier gen de región V puede vincularse con cualquier segmento génico D o J. Esto significa que la generación de regiones V que reaccionen con antígeno propio es teóricamente posible. Si se permitiera que esto ocurriera con frecuencia, tales receptores de Ig o TCR podrían inducir la producción de células T o B funcionales maduras capaces de reconocer lo propio, y ocurriría enfermedad autoinmunitaria. De manera alternativa, los receptores de esas clonas que reaccionan con lo propio podrían ser modificados o *editados*, a fin de reducir la afinidad por antígenos propios por debajo de un umbral crítico relacionado con la producción o no de enfermedad. Como se menciona en los capítulos 10 y 11, este llamado proceso de tolerancia central elimina células B autorreactivas en la médula ósea y células T autorreactivas en el timo. Aunque nuestra comprensión de los mecanismos moleculares precisos que median la tolerancia central en células T y B no es completa, se sabe que éstas experimentan un proceso regulado por el desarrollo conocido como selección negativa, de la que resulta la inducción de la muerte en células que portan TCR o receptores de Ig potencialmente autorreactivos.

Una vez que se comprendió la naturaleza de los reordenamientos V(D)J, resultó lógico imaginar que debía existir un proceso como la tolerancia que eliminara las células T y B autoreactivas en desarrollo. Uno de los experimentos clásicos que demostraron que los linfocitos autorreactivos son eliminados o desactivados después del encuentro con antígeno propio es el trabajo clásico realizado en 1991 por C. Goodnow y colaboradores. Ratones que expresaban una inmunoglobulina transgénica específica para lisozima de clara de huevo de gallina (HEL) se aparearon con ratones transgénicos que expresaban HEL (fig. 16-3a). Cuando los ratones anti-HEL$^+$ se aparearon con animales HEL$^+$, las células B en desarrollo en la progenie encontraban HEL en la médula ósea. Goodnow y su equipo observaron que los ratones F1 carecían de células B maduras que expresaran anti-HEL. En experimentos ulteriores realizados en varios laboratorios se demostró que, en su mayor parte, las células B autorreactivas en desarrollo son eliminadas en la médula ósea por la inducción de apoptosis. David Nemazee y colegas ampliaron estas observaciones y demostraron que algunas células B en desarrollo pueden experimentar un proceso al que llamaron **edición de receptor**. En las células que experimentan este proceso, la región V específica de antígeno es “editada”, y el segmento génico V autorreactivo se sustituye por un gen de región V distinto vía recombinación V(D)J. (La edición es más frecuente en la región V_L que en la V_H.) La edición de receptor, así como la deleción clonal y la apoptosis, es uno de los mecanismos que llevan a la tolerancia central en células B en desarrollo. Por un mecanismo similar se eliminan las células T que en su desarrollo en el timo tienen afinidad demasiado alta por antígeno propio, principalmente a través de la inducción de apoptosis.

La tolerancia periférica regula las células autorreactivas en circulación

Otra observación importante realizada en los experimentos con transgénicos anti-HEL fue que si la HEL se expresaba en la membrana de las células, inducía deleción clonal de todas las células B inmaduras con Ig anti-HEL. Empero, si la HEL era secretada y se detectaba como una proteína soluble, las células B maduraban y salían de la médula ósea a la periferia. Con todo, estas células no reaccionaban al antígeno HEL y existían en un estado conocido como anergia. La **anergia** puede definirse como falta de respuesta a estímulos antigénicos. Como lo demuestran los estudios con HEL y otros numerosos ejemplos, la tolerancia central no es un proceso infalible y no elimina por completo todos los posibles linfocitos autorreactivos porque 1) no todos los antígenos propios se expresan en los órganos linfoides centrales en que ocurre la selección negativa, y 2) existe un umbral necesario de afinidad por antígenos propios antes de que se active la deleción clonal, lo que permite que algunas clonas débilmente autorreactivas sobrevivan al proceso de eliminación.

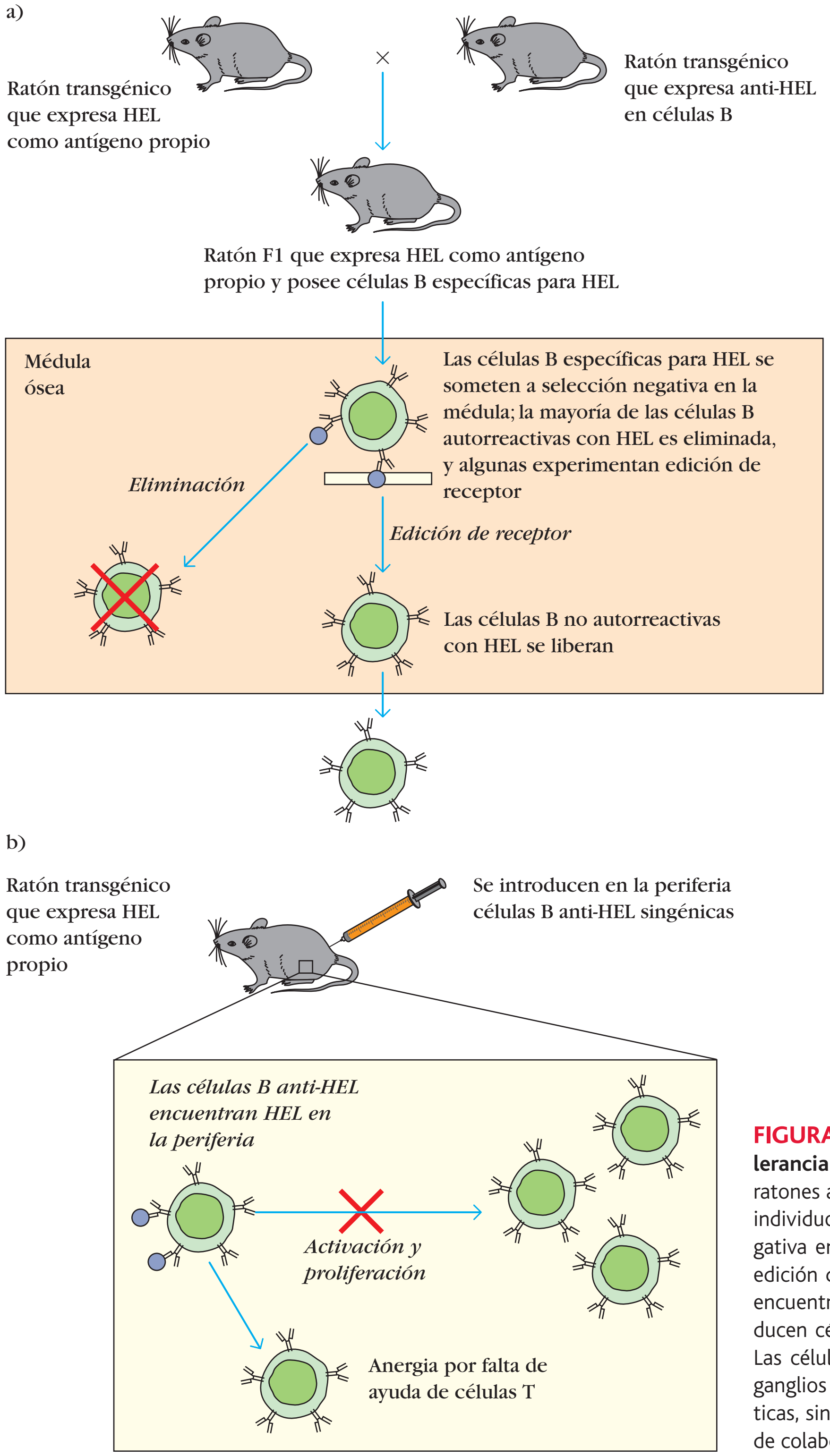

a)
Ratón transgénico que expresa HEL como antígeno propio
×
Ratón transgénico que expresa anti-HEL en células B
Ratón F1 que expresa HEL como antígeno propio y posee células B específicas para HEL
Médula ósea
Las células B específicas para HEL se someten a selección negativa en la médula; la mayoría de las células B autorreactivas con HEL es eliminada, y algunas experimentan edición de receptor
Eliminación
Edición de receptor
Las células B no autorreactivas con HEL se liberan
b)
Ratón transgénico que expresa HEL como antígeno propio
Se introducen en la periferia células B anti-HEL singénicas
Las células B anti-HEL encuentran HEL en la periferia
Activación y proliferación
Anergia por falta de ayuda de células T

FIGURA 16-3 Experimentos que demuestran la tolerancia central y la periférica. a) Cuando se aparean ratones anti-HEL$^+$ con ratones HEL$^+$, las células B de los individuos F1 encuentran HEL durante la selección negativa en la médula ósea, a lo que sigue eliminación o edición de receptor. Las células B reactivas a HEL no se encuentran en la periferia en estos ratones. b) Se introducen células B anti-HEL en un ratón que expresa HEL. Las células B no migran a folículos linfoides de bazo o ganglios linfáticos y no se diferencian en células plasmáticas, sino que se tornan anérgicas debido a la ausencia de colaboración de células T.

En algunos casos, linfocitos T o B autorreactivos escapan a la deleción en el timo o la médula ósea y aparecen en la periferia. Una forma de tolerancia llamada **tolerancia periférica** desactiva estas células. La tolerancia periférica puede definirse como la desactivación de células T o B autorreactivas en la periferia, lo cual las imposibilita para reaccionar a lo propio. Como en el caso de la tolerancia central, la existencia de tolerancia periférica fue predicha antes de la prueba experimental necesaria. Una vez más, cuando se usan los modelos murinos que expresan HEL y los transgénicos con Ig anti-HEL descritos antes, la HEL que se presenta a células B anti-HEL maduras en tejidos periféricos desactiva dichas células, las cuales en consecuencia nunca migran a los folículos linfoides de bazo o ganglios linfáticos (figura 16-3b). Recuérdese que las células B se transforman en células plasmáticas secretoras de anticuerpo después de la maduración y la selección en folículos linfoides/centros germinales. Una característica importante que debe apreciarse de estos experimentos es que las células T que reconocen HEL en el ratón que la expresa son eliminadas antes de la maduración y liberación, debido a la tolerancia central. Las células B pueden reconocer el antígeno, pero no hay ayuda ulterior de células T. Estos experimentos demostraron que cuando las células B maduras encuentran antígeno soluble en ausencia de ayuda de células T, se tornan inactivas o anérgicas y nunca migran a centros germinales.

La tolerancia de células T periféricas ha sido demostrada por una variedad de estrategias experimentales, que dan indicios acerca de los mecanismos que median la tolerancia periférica. Como se vio en el capítulo 10, para la activación de las células T se requiere no sólo que el TCR reconozca antígeno presentado en moléculas MHC propias, sino también que estén presentes señales coestimulatorias. Los experimentos pioneros de M. K. Jenkins, D. Mueller y R. H. Schwartz demostraron que in vitro, las clonas de células T CD4$^+$ que son estimuladas sólo a través del TCR se tornan inactivas; se usó el término **anergia clonal** para describir este estado de falta de respuesta. Datos ulteriores de varios laboratorios demostraron que la interacción entre CD28 en la célula T y B7 en la célula presentadora de antígeno proporcionaba las señales coestimulatorias necesarias para la activación de la célula T.

El descubrimiento de que las señales CD28/B7 aportan señales coestimulatorias esenciales para la activación de las células T llevó a un cuidadoso examen de la coestimulación, el cual reveló la existencia de receptores inhibidores como CTLA-4. El CTLA-4, como el CD28, se une a B7, pero en vez de generar señales activadoras inhibe la activación de la célula T. De hecho, la expresión de CTLA-4 es inducida después de que las células T se activan, lo cual asegura el control y la regulación de la activación de células T. El papel del CTLA-4 en la tolerancia se apreció cuando se eliminó el gen que codifica esta molécula. Los ratones que carecen de CTLA-4 presentan proliferación masiva de linfocitos y enfermedad autoinmunitaria, lo cual sugiere que esta molécula tiene una participación importante en el mantenimiento de la tolerancia periférica.

Las células T reguladoras son un componente de la tolerancia periférica

La tolerancia periférica también puede ser inducida por células T reguladoras (células T$_{reg}$). Al actuar en tejidos linfoides secundarios y en sitios de inflamación, las células T$_{reg}$ aminoran procesos autoinmunitarios. Recuérdese que las células T$_{reg}$ son un subconjunto único de células T CD4$^+$ que expresan altas concentraciones de la cadena α de IL-2R (CD25). Se ha demostrado que las células T$_{reg}$ se originan de un subconjunto de células T que expresan receptores con afinidad intermedia por antígenos propios en el timo (fig. 16-4). Algunas de estas células regulan a la alza el factor de transcripción Foxp3 y luego se convierten en células T$_{reg}$ capaces de suprimir la reacción a antígenos propios. La capacidad de las células T$_{reg}$ de suprimir una inmunorreacción se demostró en experimentos pioneros con ratones diabéticos no obesos (NOD) y ratas BB (ratas BioBreeding, el primer modelo animal de diabetes tipo I autoinmunitaria espontánea), dos cepas propensas al desarrollo de diabetes de base autoinmunitaria. El inicio de la diabetes en ratones NOD y en ratas BB se demora cuando a estos animales se inyectan células T CD4$^+$ de donantes histocompatibles. La caracterización ulterior de las células T CD4$^+$ reveló que un subconjunto notable por expresar altos valores de CD25 era el responsable de la supresión de la diabetes en estos modelos animales. Los mecanismos por los cuales las células T$_{reg}$ suprimen las inmunorreacciones constituyen un campo de intensa investigación, pero es evidente que la supresión es regulada, al menos en parte, por la producción de citocinas, incluidas IL-10 y TGFβ.

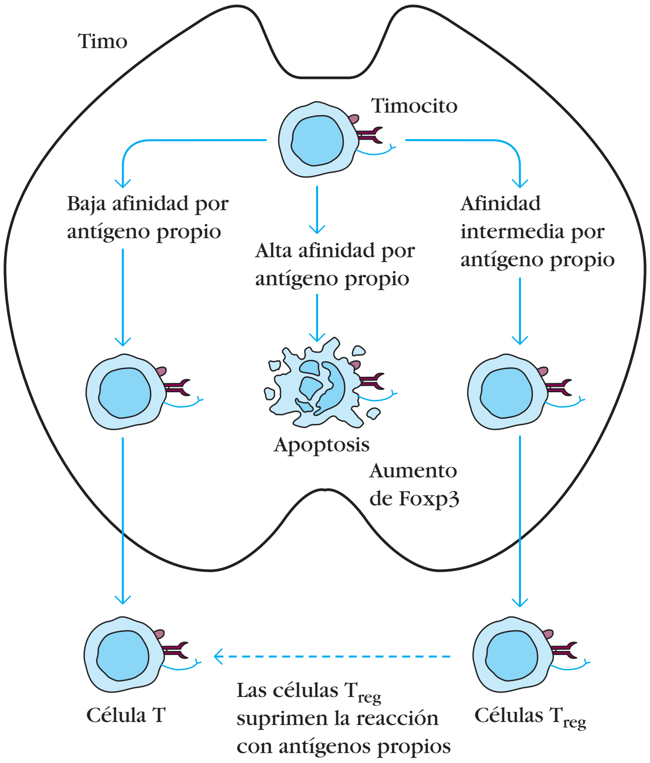

Timo
Timocito
Baja afinidad por antígeno propio
Alta afinidad por antígeno propio
Afinidad intermedia por antígeno propio
Apoptosis
Aumento de Foxp3
Célula T
Las células T$_{reg}$ suprimen la reacción con antígenos propios
Células T$_{reg}$

FIGURA 16-4 Las células T reguladoras (T$_{reg}$) se generan a partir de timocitos durante la selección negativa en el timo. Los timocitos con alta afinidad por antígenos propios se eliminan en esta fase; los timocitos con baja afinidad experimentan selección positiva y se liberan. Los timocitos con afinidad intermedia por antígenos que encuentran en el timo incrementan la transcripción de factor Foxp3 y se convierten en células T$_{reg}$, que ayudan a mantener bajo control las reacciones de células T autorreactivas. *[Adaptada de M. Kronenberg y A. Y. Rudensky, 2005,* Nature ***435****:598.]*

La muerte celular tiene una participación importante en el mantenimiento tanto de la tolerancia central como de la periférica. Esto es ilustrado por el desarrollo de enfermedades autoinmunitarias sistémicas en mutaciones naturales del receptor de muerte, Fas, o del ligando Fas (FasL) en ratones. Como se expone en el capítulo 10, las células T activadas expresan mayores concentraciones de Fas y FasL. Tanto en las células B como en las T, la unión de Fas por FasL induce una muerte apoptósica rápida conocida como muerte celular inducida por activación (AICD). Los ratones que portan mutaciones desactivadoras en Fas (*lpr*/*lpr*) o en FasL (*gld*/*gld*) no son capaces de establecer la vía AICD y desarrollan enfermedad autoinmunitaria en una fase temprana de la vida.

El secuestro de antígeno es un modo de proteger antígenos propios

Además de los diversos mecanismos de la tolerancia central y la periférica antes descritos, un modo eficaz de evitar la autorreactividad es el secuestro o la compartimentación de antígenos, de manera que en circunstancias normales no encuentren linfocitos reactivos. Si el antígeno nunca se expone a células inmunitarias, no existe la posibilidad de reactividad. Sin embargo, una consecuencia del secuestro es que el antígeno nunca es encontrado por linfocitos en desarrollo, y no se establece tolerancia al antígeno secuestrado. Si las barreras entre las células inmunitarias y los antígenos secuestrados son superadas por inoculación con el antígeno, traumatismo o uso de determinados agentes químicos, con el resultado de acceso al antígeno y ulterior reactividad, el antígeno será considerado extraño porque no se le encontró antes. Por ejemplo, cuando se supera la barrera hematoencefálica es posible una reacción contra componentes del sistema nervioso central.

El fallo de la tolerancia causa autoinmunidad

Dicho de manera simple, la enfermedad autoinmunitaria es causada por el fracaso de los procesos de tolerancia para proteger al hospedador de la acción de linfocitos autorreactivos. Es claro que la tolerancia debe actuar para prevenir enfermedades autoinmunitarias. Las pruebas convincentes de que esta afirmación es cierta provienen de mutaciones naturales que bloquean la tolerancia, de modo que resulta autoinmunidad. El vínculo entre Fas, FasL y autoinmunidad fue reforzado cuando se observó que los pacientes con una forma hereditaria rara de la enfermedad autoinmunitaria conocida como síndrome linfoproliferativo autoinmunitario o ALPS (del inglés *autoimmune lymphoproliferative syndrome*) portan mutaciones en Fas. De modo similar a como se observó en ratones *lpr/lpr*, estos pacientes tienen enfermedad autoinmunitaria grave que afecta múltiples órganos.

Una enfermedad autoinmunitaria del ser humano conocida como poliendocrinopatía autoinmunitaria, candidosis y distrofia ectodérmica (APECED, del inglés *autoimmune polyendocrinopathy-candidiasis-ectodermal dystrophy*) se ha estudiado durante algunos años porque se sabe que la causa un único locus autosómico y tiene patrón de herencia recesivo. Dado que es la única afección autoinmunitaria humana conocida que se hereda de manera mendeliana, ofrece a los genetistas un excelente modelo para descifrar los componentes genéticos de la autoinmunidad. Como su nombre lo indica, la APECED se caracteriza por múltiples endocrinopatías autoinmunitarias, candidosis mucocutánea crónica y distrofias ectodérmicas. La lesión génica causal de la APECED fue aislada hace poco por dos grupos independientes por medio de una estrategia de clonación posicional estándar (en la cual se identifica la localización de un gen y luego se determina su función). El gen de APECED codifica una nueva proteína conocida como AIRE, la cual se expresa principalmente en timo, páncreas y corteza suprarrenal y al parecer regula la presentación de autoantígenos de tejido periférico en células del epitelio medular del timo, lo cual la vincula con el desarrollo de tolerancia central. Hace muy poco que se dispone de ratones AIRE $-/-$. Como los seres humanos con APECED, los ratones que carecen de AIRE son en extremo susceptibles al desarrollo de enfermedad autoinmunitaria de múltiples órganos. No se comprende bien el modo en que AIRE regula la expresión de antígenos propios en el timo, y éste es un campo de intensa investigación.

Otro trastorno autoinmunitario del ser humano, el síndrome ligado al sexo de desregulación inmunitaria, poliendocrinopatía y enteropatía (IPEX, del inglés *immune dysregulation, polyendocrinopathy, enteropathy, X-linked syndrome*) ha contribuido a nuestra comprensión de la tolerancia. El IPEX es un trastorno letal que se sabe comparte muchas características con una mutación natural en ratones a los que se denomina *scurfy* (“costrosos”). El análisis genético de los pacientes con IPEX y de los ratones *scurfy* llevó al descubrimiento de que ambos trastornos se localizan en mutaciones en el gen *Foxp3*. Foxp3 es un factor de transcripción que ahora se sabe es necesario para la formación de células T $CD4^+/CD25^+$ reguladoras; las mutaciones en Foxp3 causan una enfermedad autoinmunitaria temprana y multifocal. Por tanto, al parecer IPEX y *scurfy* son causados por la incapacidad de las células T_{reg} de regular las inmunorreacciones.

Las bases genéticas de las enfermedades autoinmunitarias del ser humano son tema de amplia investigación, y en la mayoría de los casos se ha implicado múltiples genes, lo cual hace de la asignación del defecto exacto una tarea difícil. En la siguiente sección se describen algunas de las enfermedades autoinmunitarias más comunes, que se clasifican conforme a sus mecanismos patógenos.

Enfermedades autoinmunitarias específicas de órganos

En una enfermedad autoinmunitaria específica de órgano, la reacción inmunitaria se dirige contra un antígeno blanco único de un órgano o una glándula específicos, de modo que las manifestaciones se limitan en gran medida al órgano en particular. Los mecanismos efectores humorales o mediados por células pueden dañar de modo directo las células de los órganos blanco. O bien es posible que los anticuerpos estimulen en exceso o bloqueen la función normal de estos órganos.

Algunas enfermedades autoinmunitarias son mediadas por lesión celular directa

Las enfermedades autoinmunitarias caracterizadas por lesión celular directa ocurren cuando linfocitos o anticuerpos se fijan a los antígenos de la membrana celular y producen lisis de las células, reacción inflamatoria o ambas cosas en el órgano afectado. El tejido conjuntivo desplaza de manera gradual la estructura celular dañada (fibrosis) y la función del órgano declina. En esta sección se describen brevemente unos cuantos ejemplos de este tipo de enfermedades autoinmunitarias.

Tiroiditis de Hashimoto

En la tiroiditis de Hashimoto, que se observa con mayor frecuencia en mujeres de edad madura, el organismo produce autoanticuerpos y células T_H1 sensibilizadas específicos contra los antígenos tiroideos. Una reacción de hipersensibilidad tardía (DTH) concurrente se caracteriza por infiltración intensa de la glándula tiroides por linfocitos, macrófagos y células plasmáti-

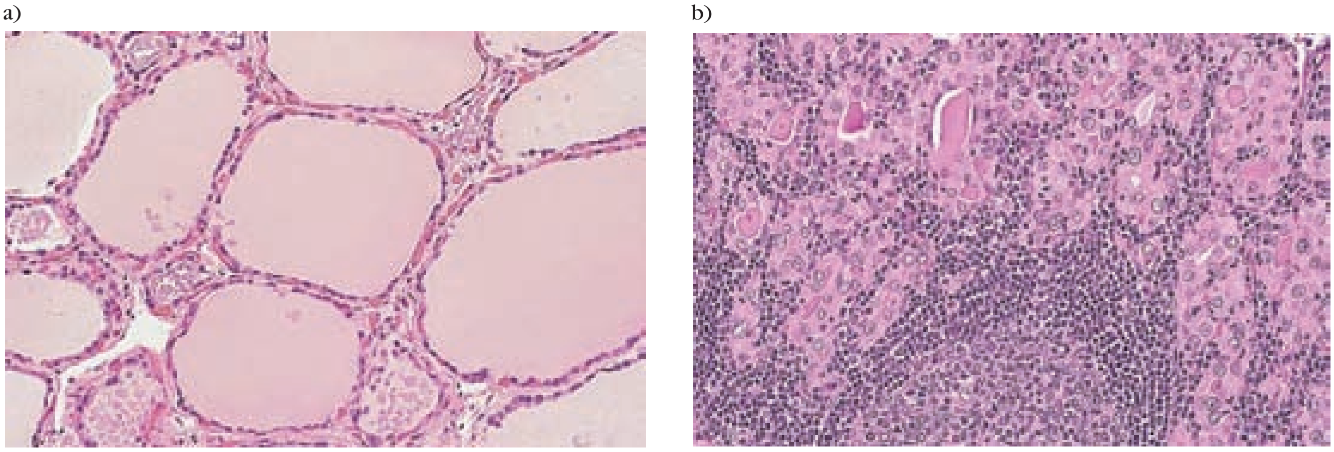


FIGURA 16-5 **Micrografías de: a) una glándula tiroides normal en la que se observa un folículo revestido de células epiteliales foliculares cuboides y b) glándula en la tiroiditis de Hashimoto, que muestra infiltración linfocítica intensa.** *[Tomada de Web Path, cortesía de E. C. Klatt, University of Utah.]*

cas, que forman folículos linfocíticos y centros germinales (fig. 16-5). La reacción inflamatoria que sobreviene produce bocio, o visible aumento de tamaño de la glándula tiroides, una reacción fisiológica al hipotiroidismo (producción disminuida de hormonas tiroideas). El hipotiroidismo se presenta cuando se forman anticuerpos contra diversas proteínas tiroideas, como tiroglobulina y peroxidasa tiroidea, ambas participantes en la captación de yodo. La fijación de autoanticuerpos a estas proteínas interfiere en la captación de yodo y provoca el hipotiroidismo.

Anemias autoinmunitarias

Las anemias autoinmunitarias comprenden anemia perniciosa, anemia hemolítica autoinmunitaria y anemia hemolítica por fármacos. La anemia perniciosa se debe a autoanticuerpos contra el factor intrínseco, proteína intestinal fija en la membrana de las células parietales gástricas. El factor intrínseco facilita la captación de vitamina B_{12} por el intestino delgado. La fijación del autoanticuerpo al factor intrínseco bloquea la absorción de vitamina B_{12} mediada por éste. En ausencia de vitamina B_{12} suficiente, que es indispensable para la hematopoyesis apropiada, el número de eritrocitos maduros funcionales disminuye por debajo de lo normal. La anemia perniciosa se trata con inyecciones de vitamina B_{12}, con lo que se supera el defecto en su absorción.

El individuo con anemia hemolítica autoinmunitaria elabora autoanticuerpo contra los antígenos eritrocíticos, lo que desencadena lisis mediada por el complemento u opsonización y fagocitosis mediadas por anticuerpo de estas células sanguíneas. Una forma de anemia autoinmunitaria es la inducida por fármacos: cuando ciertos fármacos como la penicilina o el agente antihipertensivo metildopa interactúan con los eritrocitos, éstos se vuelven antigénicos. Por lo general el estudio inmunodiagnóstico para las anemias hemolíticas autoinmunitarias abarca la prueba de Coombs, que consiste en incubar eritrocitos con un antisuero anti-IgG humana. Si se encuentran anticuerpos anti-IgG sobre los eritrocitos, el antisuero aglutina estas células.

Síndrome de Goodpasture

En el **síndrome de Goodpasture**, autoanticuerpos específicos para ciertos antígenos de las membranas basales se fijan a las membranas basales de los glomérulos renales y los alvéolos pulmonares. La activación subsecuente del complemento produce lesión celular directa y reacción inflamatoria consecuente mediada por la acumulación de productos del desdoblamiento del complemento. La lesión de las membranas basales glomerular y alveolar produce lesión renal progresiva y hemorragia pulmonar. La muerte puede sobrevenir varios meses después del inicio de los síntomas. Las biopsias de pacientes con síndrome de Goodpasture teñidas con anticuerpos anti-IgG y anti-C3b marcados con fluorescencia revelan depósitos lineales de IgG y C3b a lo largo de las membranas basales (fig. 16-6).

Diabetes mellitus insulinodependiente

Enfermedad que aflige a 0.2% de la población, la **diabetes mellitus insulinodependiente** (**IDDM**, del inglés *insulin-dependent diabetes mellitus*) se debe a un ataque autoinmunitario contra el páncreas. Este ataque se dirige contra las células especializadas

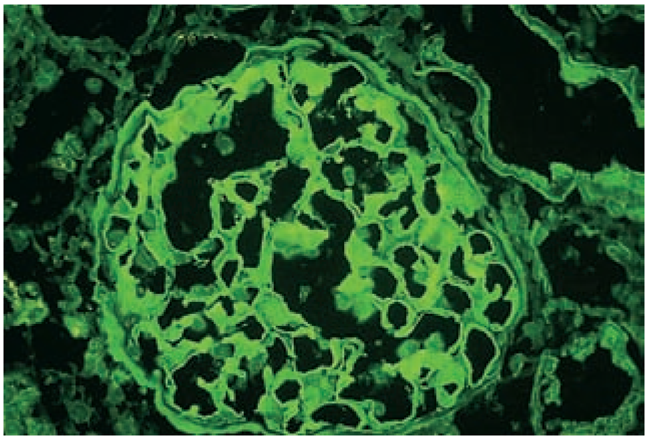


FIGURA 16-6 **Tinción anti-IgG fluorescente de una biopsia renal de un paciente con síndrome de Goodpasture que revela depósitos lineales de autoanticuerpo a lo largo de la membrana basal.** *[Tomada de Web Path, cortesía de E. C. Klatt, University of Utah.]*

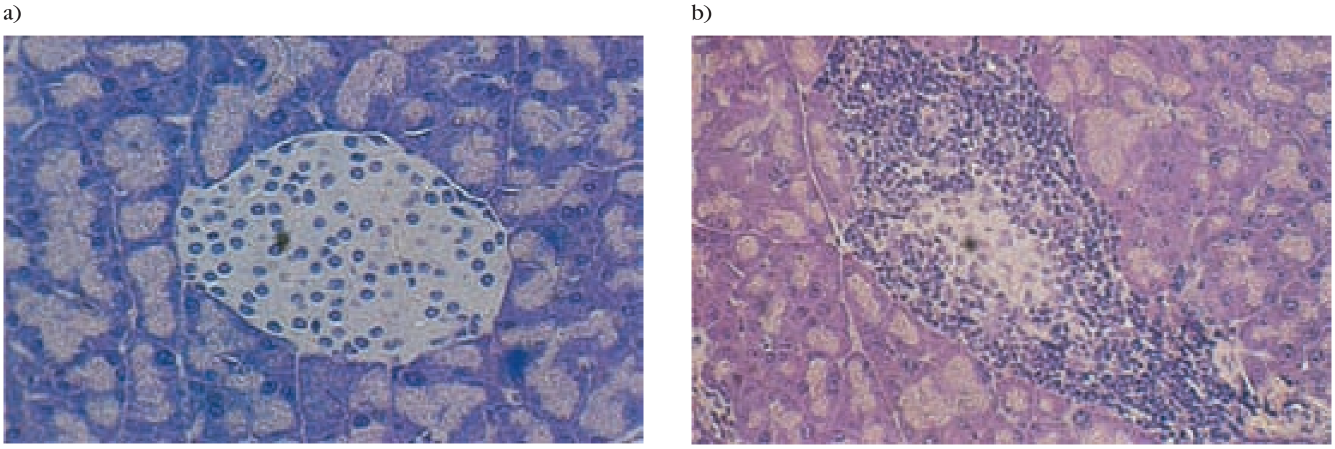


FIGURA 16-7 Micrografías de un islote de Langerhans: a) en el páncreas de un ratón normal y b) en el páncreas de un ratón con una enfermedad similar a la diabetes mellitus insulinodependiente. Obsérvese la infiltración linfocítica del islote (insulitis) en (b). *[Tomada de M. A. Atkinson y M. K. Maclaren,* Scientific American ***263****(1):62.]*

productoras de insulina (células β) que se localizan en acumulaciones esféricas, denominadas islotes de Langerhans, diseminadas por todo el páncreas. El ataque autoinmunitario destruye estas células y la consecuencia es producción disminuida de insulina y por tanto concentraciones aumentadas de glucosa en la sangre. Diversos factores son importantes en la destrucción de las células β. Primero, linfocitos citotóxicos migran hacia el interior del islote y empiezan a atacar a las células productoras de insulina. La producción local de citocinas durante esta reacción abarca IFN-γ, TNF-α e IL-1. La producción de autoanticuerpo también puede ser un factor contribuyente en la IDDM. La infiltración de linfocitos citotóxicos y la activación de macrófagos iniciales, que a menudo se refiere como insulitis (fig. 16-7), van seguidas por liberación de citocinas y aparición de autoanticuerpos, lo que culmina en una reacción inflamatoria tardía mediada por células. Al parecer la destrucción subsecuente de las células β es mediada por citocinas que se liberan durante la reacción de hipersensibilidad tardía y por enzimas líticas liberadas desde los macrófagos activados. Los autoanticuerpos contra las células β pueden contribuir a la destrucción celular al facilitar la lisis por anticuerpo y complemento o la citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo (ADCC).

Las anormalidades del metabolismo de la glucosa que se deben a la destrucción de las células β insulares causan problemas metabólicos graves entre los que se encuentran cetoacidosis y aumento de la producción de orina. A menudo las etapas tardías de la enfermedad se distinguen por lesiones vasculares ateroescleróticas —que a su vez producen gangrena de las extremidades por obstaculización del flujo sanguíneo vascular—, insuficiencia renal y ceguera. Hay peligro de muerte si el trastorno no se trata. La terapéutica más frecuente para la diabetes es la administración diaria de insulina. Ésta es muy útil para tratar la enfermedad pero, como las dosis esporádicas no son lo mismo que la liberación continua regulada de manera metabólica de la hormona, la inyección periódica de esta hormona no alivia por completo los problemas que la enfermedad causa. Otro aspecto que complica la diabetes es que puede pasar inadvertida durante varios años, con la consecuente pérdida irreparable de tejido pancreático antes de instituir el tratamiento. Las técnicas mejoradas para el trasplante de células de los islotes purificadas hacen abrigar esperanzas en cuanto al tratamiento de la IDDM (fig. 17-12).

Algunas enfermedades autoinmunitarias son mediadas por autoanticuerpos estimuladores o bloqueadores

En algunas enfermedades autoinmunitarias los anticuerpos actúan como agonistas, se fijan a los receptores de hormonas en lugar del ligando normal y estimulan la actividad inapropiada. Esto suele ocasionar sobreproducción de mediadores o aumento del crecimiento celular. A la inversa, pueden actuar como antagonistas y fijarse a los receptores de hormonas pero bloquear la función de éstos. En general el resultado es secreción trastornada de mediadores y atrofia gradual del órgano afectado.

Enfermedad de Graves

La hormona estimulante del tiroides (TSH), producida por la glándula hipófisis, regula de manera precisa la producción de hormonas tiroideas. La fijación de TSH a un receptor sobre la célula tiroidea activa la adenilciclasa y estimula la síntesis de dos hormonas tiroideas: tiroxina y triyodotironina. Un paciente con **enfermedad de Graves** produce autoanticuerpos que se fijan al receptor para la TSH e imitan la acción normal de ésta, con activación de la adenilciclasa y producción resultante de las hormonas tiroideas. Sin embargo, a diferencia de la TSH, los autoanticuerpos no están autorregulados y en consecuencia estimulan de manera excesiva la glándula tiroides. Por esta razón tales autoanticuerpos se denominan anticuerpos estimuladores del tiroides de acción prolongada (LATS, del inglés *long-acting thyroid-stimulating*) (fig. 16-8).

Miastenia grave

La **miastenia grave** es el prototipo de enfermedad autoinmunitaria mediada por anticuerpos bloqueadores. Quien sufre esta enfermedad produce autoanticuerpos que se fijan a los receptores

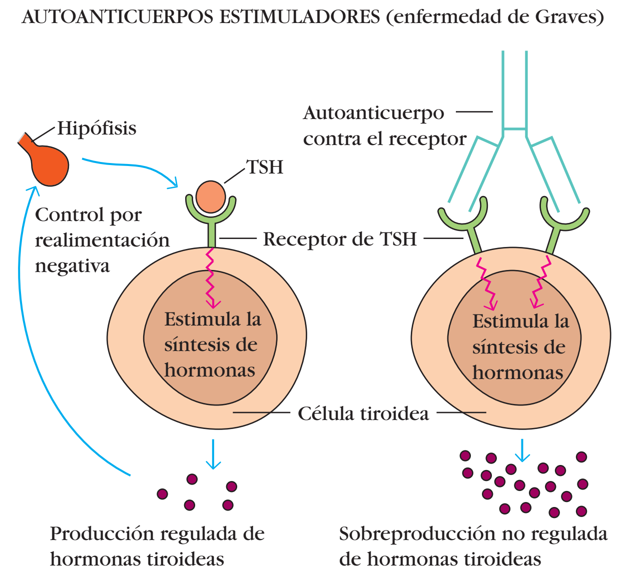

AUTOANTICUERPOS ESTIMULADORES (enfermedad de Graves)
Hipófisis
Control por realimentación negativa
TSH
Receptor de TSH
Autoanticuerpo contra el receptor
Estimula la síntesis de hormonas
Estimula la síntesis de hormonas
Célula tiroidea
Producción regulada de hormonas tiroideas
Sobreproducción no regulada de hormonas tiroideas

FIGURA 16-8 **En la enfermedad de Graves, la fijación de autoanticuerpos al receptor de la hormona estimulante del tiroides (TSH) induce activación no regulada de esta glándula, con sobreproducción de hormonas tiroideas (puntos de color púrpura).**

de acetilcolina sobre las placas motrices terminales de los músculos, con bloqueo de la fijación normal de acetilcolina e inducción adicional de lisis de las células mediada por complemento. El resultado es debilitamiento progresivo de los músculos esqueléticos (fig. 16-9). En última instancia los anticuerpos destruyen las células portadoras de los receptores. Los signos incipientes de esta enfermedad consisten en caída de los párpados e incapacidad de retraer los ángulos de la boca, lo que confiere la apariencia de enojo. Sin tratamiento, el debilitamiento progresivo de los músculos puede producir trastornos graves de la alimentación y problemas para moverse. Sin embargo, la enfermedad se controla bastante bien con la terapéutica apropiada, y los individuos afectados pueden llevar vidas normales.

Enfermedades autoinmunitarias sistémicas

En las enfermedades autoinmunitarias sistémicas la reacción se dirige contra gran variedad de antígenos blanco y afecta diversos órganos y tejidos. Estas enfermedades reflejan un defecto general de la regulación inmunitaria cuyo resultado es hiperactividad de células T y células B. La lesión tisular es diseminada, como consecuencia de las reacciones inmunitarias mediadas por células y de la lesión celular directa producida por autoanticuerpos o por acumulación de inmunocomplejos.

El lupus eritematoso sistémico ataca muchos tejidos

Uno de los mejores ejemplos de enfermedad autoinmunitaria sistémica es el **lupus eritematoso sistémico** (**SLE**, del inglés *systemic lupus erithematosus*), que por lo general aparece en mujeres de 20 a 40 años de edad; la proporción entre mujeres y varones que lo sufren es de 10:1. El SLE se caracteriza por fiebre, debilidad, artritis, erupciones cutáneas, pleuresía y disfunción renal (fig. 16-10). Es más frecuente en mujeres afroestadounidenses e hispanas que en caucásicas, aunque la razón aún no se aclara. Las personas afectadas pueden producir autoanticuerpos contra gran variedad de antígenos tisulares, como DNA, histonas, eritrocitos, plaquetas, leucocitos y factores de la coagulación. La interacción de estos autoanticuerpos con sus antígenos específicos ocasiona diversos síntomas. El autoanticuerpo específico contra eritrocitos y plaquetas, por ejemplo, puede originar lisis mediada por complemento que conduce a anemia hemolítica y trombocitopenia respectivamente. Se desarrolla una reacción de hipersensibilidad tipo III cuando inmunocomplejos de autoanticuerpos con diversos antígenos nucleares se depositan a lo largo de las paredes de los vasos sanguíneos pequeños. Los complejos activan el sistema del complemento y generan complejos de ataque a membrana y productos del desdoblamiento del complemento que lesionan las paredes vasculares sanguíneas, con vasculitis y glomerulonefritis resultantes.

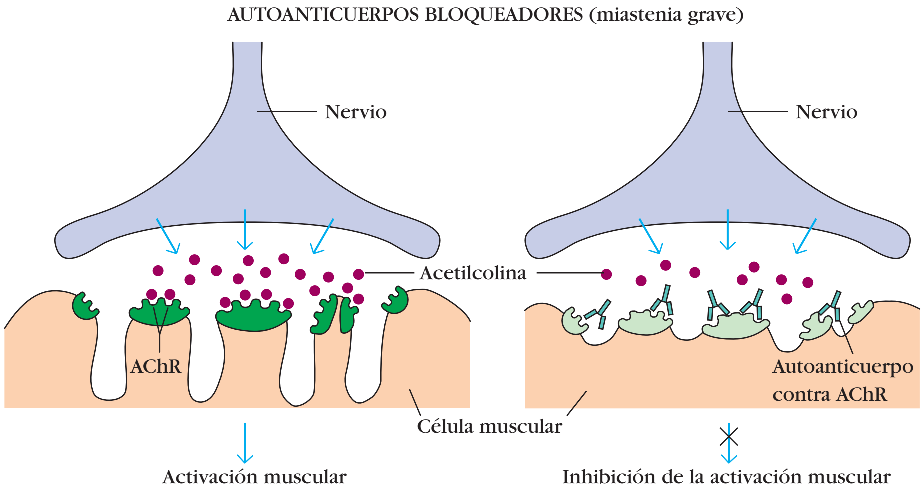

AUTOANTICUERPOS BLOQUEADORES (miastenia grave)
Nervio
Nervio
Acetilcolina
AChR
Autoanticuerpo contra AChR
Célula muscular
Activación muscular
Inhibición de la activación muscular

FIGURA 16-9 **En la miastenia grave, la fijación de autoanticuerpos al receptor de acetilcolina (AChR; *derecha*) bloquea la fijación normal de acetilcolina (puntos de color púrpura) y la activación muscular subsecuente (*izquierda*).** Además, el autoanticuerpo anti-AChR activa el complemento, que lesiona la placa motriz terminal muscular; el número de receptores de acetilcolina disminuye conforme la enfermedad avanza.

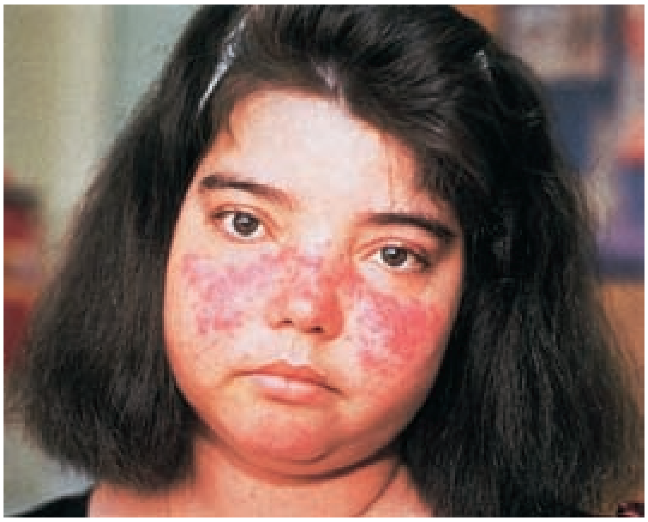


FIGURA 16-10 **Erupción en "mariposa" característica sobre las mejillas de una niña con lupus eritematoso sistémico.** *[Tomada de L. Steinman, 1993,* Scientific American ***269****(3):80.]*

La activación excesiva del complemento en pacientes con SLE grave produce concentraciones séricas elevadas de los productos del desdoblamiento del complemento C3a y C5a, que pueden ser tres a cuatro veces más potentes que la proteína original. El producto C5a incrementa la expresión del receptor del complemento tipo 3 (CR3) sobre los neutrófilos, lo que facilita su agregación y fijación al endotelio vascular. Conforme los neutrófilos se adhieren a los vasos sanguíneos pequeños, el número circulante de estas células disminuye (neutropenia) y se desarrollan diversas oclusiones de los vasos sanguíneos pequeños (vasculitis). Estas oclusiones pueden originar lesión tisular diseminada.

El diagnóstico de laboratorio del SLE se centra en los anticuerpos antinucleares característicos, que se dirigen contra DNA bicatenario o monocatenario, nucleoproteínas, histonas y RNA nucleolar. La tinción inmunofluorescente indirecta con suero de pacientes con SLE produce patrones de coloración nuclear característicos.

La esclerosis múltiple ataca el sistema nervioso central

La **esclerosis múltiple** (**MS**, del inglés *multiple sclerosis*) es la causa más frecuente de discapacidad neurológica relacionada con enfermedad en los países occidentales. Los síntomas pueden ser leves, como adormecimiento de las extremidades, o graves, como parálisis o pérdida de la visión. La mayoría de las personas con MS recibe el diagnóstico entre los 20 y los 40 años de edad. Quienes la padecen producen células T autorreactivas que participan en la formación de lesiones inflamatorias a lo largo de la vaina de mielina de las fibras nerviosas. El líquido cefalorraquídeo de los pacientes con MS activa contiene linfocitos T activados, que infiltran el tejido cerebral y producen lesiones inflamatorias características con destrucción de la mielina. Como la mielina funciona a manera de aislamiento de las fibras nerviosas, la desintegración de la vaina que forma causa numerosas disfunciones neurológicas.

Estudios epidemiológicos indican que la MS es más común en el Hemisferio Norte y, de manera específica, en Estados Unidos. Las poblaciones que viven al norte del paralelo 37 tienen una prevalencia de 110 a 140 casos por cada 100 000 personas, en tanto que en las que habitan al sur de este paralelo es de 57 a 78 por 100 000. Por último, las personas que viven al sur del paralelo 37 que se mudan al norte asumen un nuevo riesgo si se trasladan antes de cumplir 15 años de edad. Estos datos intrigantes sugieren que el riesgo de contraer MS incluye un componente ambiental. Sin embargo, esto no es todo lo que sucede: también las influencias genéticas tienen importancia. En tanto que el individuo promedio que vive en Estados Unidos tiene una probabilidad en 1 000 de desarrollar MS, la de sus parientes cercanos, como hijos o hermanos, es de 1 en 50 a 100. El gemelo idéntico de un sujeto con MS tiene una probabilidad en tres de padecer este trastorno. Estos datos indican con firmeza la presencia de un componente genético de esta enfermedad. Además, la MS afecta a las mujeres con una frecuencia tres veces mayor que a los varones (véase el enfoque clínico).

La causa de la MS, como la de la mayor parte de las enfermedades autoinmunitarias, aún no se comprende bien. No obstante, algunos datos sugieren que la infección por ciertos virus puede predisponer a MS. Determinados virus pueden producir enfermedades desmielinizantes, y resulta tentador especular que la infección vírica desempeña un papel de importancia en la MS, pero en la actualidad no se cuenta con datos definitivos que impliquen un virus en particular.

La artritis reumatoide ataca las articulaciones

La **artritis reumatoide** (**RA**, del inglés *rheumatoid arthritis*) es un trastorno autoinmunitario frecuente que afecta más a menudo a mujeres de 40 a 60 años de edad. El síntoma principal es inflamación crónica de las articulaciones, aunque los sistemas hematológico, cardiovascular y respiratorio también suelen ser afectados. Muchas personas con artritis reumatoide producen autoanticuerpos de un grupo conocido de manera global como **factores reumatoides**, que reaccionan con factores determinantes de la región Fc de la IgG. El factor reumatoide clásico es un anticuerpo IgM con esa reactividad. Estos autoanticuerpos se fijan a IgG circulante normal y forman complejos de IgM e IgG que se depositan en las articulaciones. Tales inmunocomplejos pueden activar la cascada del complemento, de lo que resulta reacción de hipersensibilidad tipo III que produce inflamación crónica de las articulaciones.

Modelos animales de enfermedades autoinmunitarias

Los modelos animales de las enfermedades autoinmunitarias han hecho valiosas contribuciones a la comprensión del mecanismo de la autoinmunidad en general y la del ser humano en particular y a los tratamientos potenciales. Ciertas cepas endogámicas de animales desarrollan de manera espontánea autoinmunidad, y ésta también puede inducirse mediante ciertas manipulaciones experimentales (cuadro 16-2).

CUADRO 16-2 Modelos animales experimentales de enfermedades autoinmunitarias

Modelo animal	Posible enfermedad humana correspondiente	Antígeno inductor	Enfermedad transferida por células T
ENFERMEDADES AUTOINMUNITARIAS ESPECÍFICAS DE ÓRGANOS			
Ratón diabético no obeso (NOD)	Diabetes mellitus insulinodependiente (IDDM)	No se conoce	Sí
Ratón F_1 (NZB × NZW)	Lupus eritematoso sistémico (SLE)	No se conoce	Sí
Cepa *Obese* de pollos	Tiroiditis de Hashimoto	Tiroglobulina	Sí
ENFERMEDADES AUTOINMUNITARIAS INDUCIDAS DE MANERA EXPERIMENTAL*			
Miastenia grave autoinmunitaria experimental (EAMG)	Miastenia grave	Receptor de acetilcolina	Sí
Encefalomielitis autoinmunitaria experimental (EAE)	Esclerosis múltiple (MS)	Proteína básica de mielina (MBP); proteína proteolípida (PLP)	Sí
Artritis autoinmunitaria (AA)	Artritis reumatoide	*M. tuberculosis* (proteoglucanos)	Sí
Tiroiditis autoinmunitaria experimental (EAT)	Tiroiditis de Hashimoto	Tiroglobulina	Sí

*Estas enfermedades pueden inducirse mediante inyección del antígeno indicado en coadyuvante completo de Freund en los animales apropiados. Salvo en lo que respecta a la artritis autoinmunitaria, los antígenos empleados corresponden a los autoantígenos que se relacionan con la enfermedad humana que es su contraparte. La artritis reumatoide abarca reacción a proteoglucanos, que son autoantígenos relacionados con el tejido conjuntivo.

Los animales pueden desarrollar autoinmunidad de manera espontánea

Diversas enfermedades autoinmunitarias que se presentan de manera espontánea en animales muestran semejanzas clínicas y patológicas importantes con ciertos trastornos autoinmunitarios del ser humano. Algunas cepas de ratones endogámicos son modelos de utilidad particular para esclarecer los defectos inmunitarios que participan en el desarrollo de la autoinmunidad.

Los ratones New Zealand Black (NZB) y los híbridos F_1 de ratones NZB y New Zealand White (NZW) desarrollan de manera espontánea enfermedades autoinmunitarias muy similares al lupus eritematoso sistémico. Los ratones NZB experimentan espontáneamente anemia hemolítica autoinmunitaria entre los dos y los cuatro meses de edad, época en la que pueden detectarse diversos autoanticuerpos, por ejemplo contra eritrocitos, proteínas nucleares, DNA y linfocitos T. Los animales F_1 híbridos sufren glomerulonefritis por inmunocomplejos depositados en el riñón y mueren de modo prematuro hacia los 18 meses de edad. Como ocurre en el SLE humano, la incidencia de autoinmunidad en los híbridos F_1 (NZB × NZW) es más elevada en las hembras.

Una cepa de ratón denominada MRL/*lpr*/*lpr* manifiesta una forma acelerada y grave de enfermedad autoinmunitaria sistémica similar al lupus eritematoso sistémico. Estos ratones son homocigotos para un gen denominado *lpr*, que se identifica como un gen *fas* defectuoso. El producto del gen *fas* es una proteína de la superficie celular que pertenece a la familia TNF de receptores de membrana ricos en cisteína (fig. 12-6d). Cuando la proteína Fas normal interactúa con su ligando, transduce una señal que ocasiona la muerte por apoptosis de las células portadoras de esta proteína. Este mecanismo puede operar en la destrucción de células blanco por ciertos linfocitos citotóxicos. Además, se sabe que la proteína Fas es esencial para la muerte de las células T $CD4^+$ periféricas hiperactivadas. En condiciones normales la activación de las células T periféricas maduras las induce a expresar tanto el antígeno Fas como el ligando Fas. Cuando la célula portadora de Fas entra en contacto con una célula vecina activada portadora del ligando Fas, se induce la muerte de la primera (fig. 10-19). También es posible que el ligando Fas haga contacto con Fas de la misma célula, lo que induce suicidio celular. En ausencia de Fas las células T periféricas maduras no mueren y estas células activadas continúan su proliferación y producción de citocinas, de lo que resulta aumento de tamaño de los ganglios linfáticos y el bazo. En el ser humano se observan defectos de la expresión de *fas* semejantes a los que ocurren en el ratón *lpr* y pueden tener consecuencias graves. Sin embargo, aún no se identifica un vínculo entre la expresión de *fas* y el SLE en personas, lo que sugiere que el ratón *lpr* puede no ser un verdadero modelo para el SLE.

Otro modelo animal importante es el ratón diabético no obeso (NOD), que desarrolla de manera espontánea una forma de diabetes similar a la diabetes mellitus humana insulinodependiente (IDDM). Como la enfermedad humana, la que ocurre en el ratón NOD inicia con infiltración linfocítica de los islotes pancreáticos. Además, como sucede en la IDDM, se observa una relación firme entre ciertos alelos MHC y el desarrollo de diabetes en estos ratones. En algunos experimentos se ha demostrado que las células T del ratón diabético pueden transferir la diabetes a ratones que no lo son. Por ejemplo, cuando el sistema inmunitario de un ratón normal se destruye mediante dosis letales de rayos X y después se reconstituye con una inyección de células de médula ósea de un ratón NOD, el ratón reconstituido desarrolla diabetes. A la inversa, cuando el sistema inmunitario de un ratón NOD aún sano se destruye mediante radiación X y luego se reconstituye con células de médula ósea normales, el animal no desarrolla diabetes. Diversos estudios demostraron una función de primera importancia de las células T CD4$^+$ en el ratón NOD, y pruebas recientes implican al subconjunto de células T$_H$1 en el desarrollo de la enfermedad.

Se han descubierto otras diversas enfermedades autoinmunitarias espontáneas en animales que sirven como modelos de enfermedades humanas similares. Entre estos animales están los pollos de la cepa *Obese*, que presentan reactividad tanto humoral como mediada por células contra la tiroglobulina, de modo similar a como se observa en la tiroiditis de Hashimoto.

Puede inducirse autoinmunidad de manera experimental en animales

En algunos animales pueden inducirse por medios experimentales disfunciones autoinmunitarias semejantes a ciertas enfermedades humanas causadas por autoinmunidad (cuadro 16-2). Uno de los primeros modelos animales de esta clase se descubrió en forma casual en 1973 cuando se inmunizaron conejos con receptores de acetilcolina purificados obtenidos de la anguila eléctrica. Los animales presentaron con prontitud debilidad muscular similar a la que ocurre en la miastenia grave. Se demostró que esta miastenia grave autoinmunitaria experimental (EAMG, del inglés *experimental autoimmune myasthenia gravis*) se producía cuando anticuerpos creados contra el receptor de acetilcolina ajeno (y, por reacción cruzada, contra el hospedador) bloqueaban la estimulación muscular por acetilcolina en la sinapsis. En plazo de un año este modelo animal demostró su utilidad con el descubrimiento de que los autoanticuerpos contra el receptor de acetilcolina eran los causantes de la miastenia grave en el ser humano.

La encefalomielitis autoinmunitaria experimental (EAE) es uno de los modelos mejor estudiados de enfermedad autoinmunitaria. La EAE es mediada sólo por células T y puede inducirse en diversas especies mediante inmunización con proteína básica de mielina (MBP) o proteína proteolipídica (PLP) en coadyuvante de Freund completo (fig. 16-11). En dos a tres semanas los animales manifiestan infiltración celular de las vainas de mielina del sistema nervioso central, lo que causa desmielinización y parálisis. Aunque casi todos los animales mueren, algunos experimentan síntomas más leves y otros más desarrollan una forma crónica de la enfermedad que se parece a la MS recidivante y remitente crónica del ser humano. Los que se recuperan se vuelven resistentes a la enfermedad tras la inyección ulterior de MBP y coadyuvante.

El modelo murino de EAE ofrece un sistema para investigar los tratamientos de la MS humana. Por ejemplo, como las clonas de células T específicas de MBP o PLP se encuentran en la periferia, se supone que dichas clonas deben haber escapado a la selección negativa en el timo. Los resultados de experimentos recientes con ratones sugieren que la administración oral de MBP puede tornar autotolerantes estas clonas de células T periféricas específicas de antígeno. Tales estudios allanaron el camino para las investigaciones clínicas en seres humanos con MS.

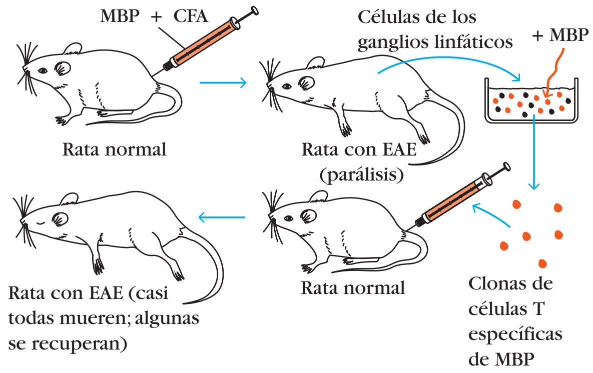

MBP + CFA
Células de los ganglios linfáticos
+ MBP
Rata normal
Rata con EAE (parálisis)
Rata con EAE (casi todas mueren; algunas se recuperan)
Rata normal
Clonas de células T específicas de MBP

FIGURA 16-11 La encefalomielitis autoinmunitaria experimental (EAE) puede inducirse en ratas mediante la inyección de proteína básica de mielina (MBP) en coadyuvante completo de Freund (CFA). Pueden generarse clonas de células T específicas de MBP mediante el cultivo de células ganglionares linfáticas de ratas que experimentan EAE con MBP. Cuando estas células T se inyectan a animales normales, la mayor parte desarrollan EAE y mueren, pero unos cuantos se recuperan.

La tiroiditis autoinmunitaria experimental (EAT, del inglés *experimental autoimmune thyroiditis*) puede inducirse en diversos animales mediante inmunización con tiroglobulina en coadyuvante de Freund completo. De este modo se desarrollan tanto anticuerpos humorales como células T$_H$1 dirigidos contra la tiroglobulina, cuya consecuencia es inflamación tiroidea. La EAT parece imitar mejor la tiroiditis de Hashimoto. En contraste tanto con la EAE como con la EAT, que se inducen mediante inmunización con autoantígenos, la artritis autoinmunitaria (AA) se induce mediante inmunización de ratas con *Mycobacterium tuberculosis* en coadyuvante completo de Freund. Estos animales experimentan una artritis con características similares a las de la artritis reumatoide del ser humano.

Pruebas de la participación de células T CD4$^+$, MHC y TCR en la autoinmunidad

La reacción inapropiada a los autoantígenos que caracteriza a todas las enfermedades autoinmunitarias puede comprender las ramas humoral o mediada por células del sistema inmunitario. La identificación de los defectos que subyacen a las enfermedades autoinmunitarias humanas resulta difícil; se logran mejores resultados en la caracterización de los defectos de inmunidad en los diversos modelos animales. Cada uno de los modelos animales implica la célula T CD4$^+$ como mediadora primaria de la enfermedad autoinmunitaria. Por ejemplo, se cuenta con pruebas firmes de que, en el ratón, la EAE es producida por células T$_H$1 CD4$^+$ específicas para el antígeno inmunizante. La enfermedad puede transferirse de un animal a otro mediante células T provenientes de animales inmunizados con MBP o PLP, o mediante líneas de células T clonadas de dichos animales. También está demostrado que es posible prevenir la enfermedad mediante tratamiento de los animales con anticuerpos anti-CD4. Estos datos parecen ser pruebas firmes de la participación del receptor de CD4 en el establecimiento de la encefalitis autoinmunitaria experimental.

Desde luego, en el reconocimiento del antígeno por la célula T interviene un complejo trimolecular del receptor de célula T, una molécula MHC y un péptido antigénico (fig. 9-14). Por tanto, el individuo susceptible a la autoinmunidad debe poseer moléculas MHC y receptores de célula T capaces de fijar autoantígenos.

Las células T CD4$^+$ y el equilibrio entre las células T$_H$1 y T$_H$2 desempeñan una función importante en la autoinmunidad de algunos modelos animales

Las clonas de células T autoinmunitarias de todos los modelos animales que se enumeran en el cuadro 16-2 se obtienen mediante cultivo de linfocitos de los animales autoinmunes en presencia de diversos factores del crecimiento de las células T y al inducir proliferación de clonas autoinmunitarias específicas con los diversos autoantígenos. Por ejemplo, emergen clonas de células T activadas cuando las células de ganglios linfáticos de ratas con EAE se cultivan in vitro con proteína básica de mielina (MBP). Si cantidades suficientes de estas clonas de células T específicas de MBP se inyectan por vía intravenosa a animales singénicos normales, las células cruzan la barrera hematoencefálica e inducen desmielinización; la EAE se desarrolla con rapidez, dentro de los cinco días siguientes (fig. 16-11).

Un protocolo experimental similar se emplea para aislar clonas de células T específicas para tiroglobulina y para *M. tuberculosis* de animales con EAT y AA, respectivamente. En cada caso la clona de células T induce la enfermedad autoinmunitaria experimental en animales normales. El examen de estas células T revela que llevan el marcador de membrana CD4. En diversos modelos animales de enfermedades autoinmunitarias ha sido posible revertir la autoinmunidad agotando la población de células T con anticuerpo dirigido contra el marcador CD4. Por ejemplo, las inyecciones semanales de anticuerpo monoclonal anti-CD4 abolieron los síntomas de autoinmunidad en ratones F$_1$ (NZB × NZW) y en ratones con EAE.

La mayoría de los casos de enfermedad autoinmunitaria específica de órgano es consecuencia de la actividad de células T CD4$^+$ autorreactivas. El análisis de estas células muestra que el equilibrio entre células T$_H$1 y T$_H$2 puede afectar el surgimiento de autoinmunidad. Las células T$_H$1 participan en el desarrollo de autoinmunidad, en tanto que en diversos casos las células T$_H$2 no sólo protegen contra la inducción de la enfermedad sino también contra el avance de la enfermedad establecida. En la EAE, por ejemplo, los estudios inmunohistológicos revelan la presencia de citocinas T$_H$1 (IL-2, TNF-α e IFN-γ) en los tejidos del sistema nervioso central durante la parte más intensa de la enfermedad. Además, las clonas de células T CD4$^+$ específicas de MBP generadas en animales con EAE, como se ilustra en la figura 16-11, pueden separarse en clonas T$_H$1 y T$_H$2. Algunos experimentos demostraron que sólo las clonas T$_H$1 transfieren la EAE a ratones sanos normales, en tanto que las clonas T$_H$2 no sólo no transfieren la EAE a ratones sanos normales sino que los protegen contra la inducción de esta enfermedad mediante inmunización ulterior con MBP más coadyuvante.

Experimentos en que se valoraron las funciones de varias citocinas o inhibidores de citocinas sobre el desarrollo de EAE ofrecen pruebas adicionales de las diversas funciones de las células T$_H$1 y T$_H$2 en la autoinmunidad. La inyección de IL-4 a ratones en el momento de la inmunización con MBP y coadyuvante inhibió el desarrollo de EAE, en tanto que la de IL-12 tuvo el efecto opuesto: promovió la aparición de esta enfermedad. Como se explica en el capítulo 12, la IL-4 favorece el desarrollo de células T$_H$2 e IFN-γ, mientras que otras citocinas como la IL-12 promueven el de células T$_H$1 (fig. 12-12). Por ello, los efectos observados de la IL-4 y la IL-12 sobre el desarrollo de la EAE son compatibles con una participación de las células T$_H$1 en la génesis de la autoinmunidad.

La autoinmunidad puede relacionarse con MHC o con receptores de células T particulares

Los resultados de diversos tipos de estudios se inclinan en favor de una relación entre la expresión de un alelo MHC particular y la susceptibilidad a la autoinmunidad, un tema que se cubrió con detalle en el capítulo 8. La relación más firme entre un alelo HLA y una enfermedad autoinmunitaria se observa en la espondilitis anquilosante, una enfermedad inflamatoria de las articulaciones vertebrales. Los individuos portadores de *HLA-B27* tienen una probabilidad 90 veces mayor de experimentar espondilitis anquilosante que los que portan un alelo *HLA-B* distinto. Sin embargo, no debe interpretarse que una vinculación de esta clase implica que la expresión de un alelo MHC particular causa la enfermedad, porque la relación entre los alelos MHC y el desarrollo de enfermedad autoinmunitaria es compleja. Es interesante observar que, a diferencia de otras muchas enfermedades por autoinmunidad, 90% de los pacientes de espondilitis anquilosante son varones.

La presencia de receptores de célula T que contienen dominios V$_\alpha$ y V$_\beta$ particulares se relaciona también con diversas enfermedades autoinmunitarias, entre ellas EAE y su contraparte humana, la esclerosis múltiple. En un estudio se clonaron células T específicas para diversos péptidos encefalitógenos de la proteína básica de mielina (MBP) y se analizaron sus receptores. Por ejemplo, se obtuvieron clonas de células T de ratones PL/J mediante cultivo de estas células con el nonapéptido amino terminal acetilado de la MBP presentado en conjunto con una molécula MHC clase II AI^u. El análisis de los receptores de célula T en estas clonas reveló un repertorio restringido de los dominios V$_\alpha$ y V$_\beta$: 100% de las clonas de células T expresaron V$_\alpha$ 4.3, y 80%, V$_\beta$ 8.2. En las enfermedades autoinmunitarias humanas se obtienen pruebas de expresión restringida de receptores de célula T (TCR) tanto para la esclerosis múltiple como para la miastenia grave. La expresión preferencial de genes TCR de región variable en estas clonas de células T autoinmunitarias sugiere que un solo epítopo podría inducir la expansión clonal en un número pequeño de células T patógenas.

Mecanismos propuestos para la inducción de autoinmunidad

Se han propuesto diversos mecanismos para explicar la generación de enfermedades autoinmunitarias mediada por células T

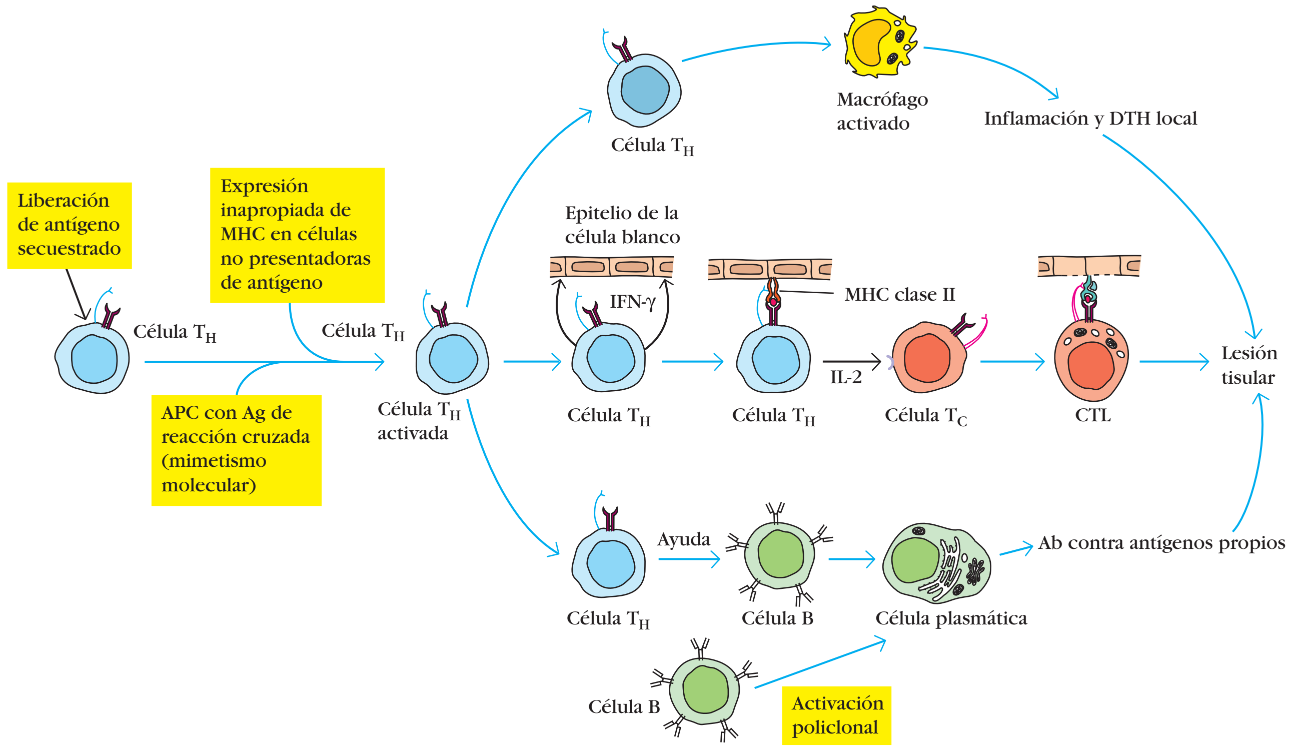

Liberación de antígeno secuestrado
Expresión inapropiada de MHC en células no presentadoras de antígeno
APC con Ag de reacción cruzada (mimetismo molecular)
Célula T_H
Célula T_H
Célula T_H activada
Célula T_H
Macrófago activado
Inflamación y DTH local
Epitelio de la célula blanco
IFN-γ
MHC clase II
Célula T_H
Célula T_H
IL-2
Célula T_C
CTL
Lesión tisular
Ayuda
Célula T_H
Célula B
Célula plasmática
Ab contra antígenos propios
Célula B
Activación policlonal

FIGURA 16-12 Mecanismos propuestos para la inducción de reacciones autoinmunitarias. La selección tímica normal parece generar algunas células T_H autorreactivas; en este proceso las anormalidades pueden dar por resultado incluso más células T_H autorreactivas. Se cree que la activación de estas últimas de diversas maneras, así como la activación policlonal de las células B, induce una reacción autoinmunitaria, en este caso con lesión tisular resultante. Con toda probabilidad participan varios mecanismos en cada enfermedad autoinmunitaria. *[Adaptada de V. Kumar et al., 1989,* Annual Review of Immunology **7**:*657.]*

(fig. 16-12). Se cuenta con pruebas para cada uno de estos mecanismos, y es probable que la autoinmunidad no se desarrolle a partir de un solo suceso sino más bien de varios distintos.

Además, la susceptibilidad a numerosas enfermedades autoinmunitarias difiere entre ambos sexos. Como se observó antes, la tiroiditis de Hashimoto, el lupus eritematoso sistémico, la esclerosis múltiple, la artritis reumatoide y la esclerodermia afectan sobre todo a mujeres. Los factores propuestos para explicar esta susceptibilidad preferencial, como las diferencias hormonales entre los sexos y los efectos potenciales de las células fetales que pasan a la circulación materna durante la gestación, se estudian en el enfoque clínico.

La liberación de antígenos secuestrados puede inducir enfermedad autoinmunitaria

Como se describió en el capítulo 10, la inducción de autotolerancia en las células T es resultado de la exposición de timocitos inmaduros a autoantígenos y la supresión clonal ulterior de los que son autorreactivos. Como se dijo antes, los antígenos tisulares que se secuestran de la circulación, y que por tanto los linfocitos T en desarrollo en el timo no detectan, no inducen autotolerancia. La exposición ulterior de células T maduras a estos antígenos normalmente secuestrados podría ocasionar su activación.

La proteína básica de mielina (MBP) es un ejemplo de antígeno normalmente secuestrado del sistema inmunitario, en este caso por la barrera hematoencefálica. En el modelo de EAE los animales reciben una inyección directa de MBP, junto con coadyuvante, en condiciones que maximizan la exposición inmunitaria. En este tipo de modelo animal el sistema inmunitario se expone a autoantígenos secuestrados en condiciones no fisiológicas; sin embargo, la lesión de los tejidos después de un accidente o de una infección vírica o bacteriana también libera hacia la circulación antígenos secuestrados. No obstante, después de una vasectomía algunos antígenos espermáticos se liberan hacia la circulación y pueden inducir la formación de autoanticuerpos en ciertos varones. Asimismo, está demostrado que la liberación de proteína del cristalino tras una lesión ocular, o de antígenos del músculo cardíaco luego de un infarto miocárdico, en ocasiones lleva a la formación de autoanticuerpos.

Los datos disponibles indican que la inyección directa en el timo de antígenos secuestrados de la manera normal puede revertir el desarrollo de enfermedad autoinmunitaria específica de tejido en modelos animales. Por ejemplo, la inyección intratímica de células β insulares pancreáticas previno el desarrollo de autoinmunidad en ratones diabéticos no obesos (NOD). Más aún, se previno la EAE en ratas susceptibles mediante inyección directa previa de MBP en el timo. En estos experimentos la exposición de células T inmaduras a autoantígenos que en condiciones normales no se encuentran en el timo al parecer produjo tolerancia a ellos.

ENFOQUE CLÍNICO

¿Por qué las mujeres son más susceptibles que los varones a la autoinmunidad? Diferencias de género en las enfermedades autoinmunitarias

Unos 6.7 millones de los casi nueve millones de estadounidenses con enfermedad autoinmunitaria son mujeres. Esta predisposición a la autoinmunidad es más obvia en ciertas enfermedades que en otras. Por ejemplo, la proporción de varones y mujeres que sufren enfermedades como esclerosis múltiple (MS) o artritis reumatoide (RA) se aproxima a dos o tres mujeres por cada varón, y hay nueve mujeres afectadas por lupus eritematoso sistémico (SLE) por cada varón que lo sufre. Sin embargo, estas estadísticas no cuentan la historia completa porque en algunas enfermedades, la MS por ejemplo, la gravedad puede ser mucho mayor en los varones que en las mujeres. El hecho de que el sexo femenino es más susceptible que el masculino a las enfermedades autoinmunitarias se reconoce desde hace años, pero los motivos de este aumento del riesgo siguen sin aclararse del todo. A continuación se consideran algunas de las posibles explicaciones.

Aunque quizá parezca poco probable, son numerosas las pruebas sugerentes de que existen diferencias considerables de género en las reacciones inmunitarias tanto en el ser humano como en el ratón. Los estudios de la inmunización en ambas especies sugieren que las hembras producen títulos más altos de anticuerpos que los machos. En general, las hembras tienden a montar inmunorreacciones más intensas. En el ser humano esto es particularmente evidente en las mujeres jóvenes. Las mujeres tienden a poseer números más elevados de células T CD4$^+$ y concentraciones séricas mucho más altas de IgM.

En ratones, en los que las diferencias de género son más fáciles de estudiar, se cuenta con abundante material publicado que señala las diferencias de género en las inmunorreacciones. Las hembras de esta especie tienden mucho más que los machos a desarrollar reacciones de células T_H1 y, en las infecciones en que las reacciones proinflamatorias de células T_H1 son benéficas, es más probable que sean resistentes al proceso infeccioso. Un ejemplo excelente es la infección por virus como el de la estomatitis vesicular (VSV), el del herpes simple (HSV) y el de la encefalomielitis murina de Theiler (TMEV). Las reacciones de células T_H1 intensifican la depuración de estos virus. Sin embargo, en algunos casos la reacción proinflamatoria es dañina. Por ejemplo, la reacción de células T_H1 al virus de la coriomeningitis linfocítica (LCMV) se correlaciona con enfermedad más grave y trastornos importantes. Por este motivo es más probable que los ratones hembras sucumban a la infección por este último virus. La importancia del género en la infección por LCMV destaca en los experimentos que demuestran que los ratones machos castrados se comportan como las hembras y tienden más a sucumbir a la infección que sus compañeros de camada machos no castrados.

Otra enfermedad en la que interviene el género es la infección por virus coxsackie tipo B-3 (CVB-3), agente etiológico de la miocarditis inmunitaria. Los ratones machos son mucho más susceptibles a esta enfermedad que las hembras. El CVB-3 induce una reacción de células T_H1 predominante en los machos, en tanto que las hembras, en contraste con las situaciones descritas, reaccionan montando una reacción de células T_H2 protectora. La reacción de las hembras puede alterarse si se les inyecta testosterona, que las vuelve susceptibles a la enfermedad. Además, también la reacción de los machos puede cambiarse si se les inyecta estradiol, que los hace resistentes al virus. Tal vez, en virtud de estos datos obtenidos de ratones, existen diferencias básicas en las reacciones de varones y mujeres a los agentes patógenos. No obstante, quizá las diferencias de género observadas en ratones no se extiendan en el hombre.

¿Cómo se originan estas diferencias de género? El que el estradiol y la testosterona puedan cambiar los resultados de la infección por el CVB-3 sugiere una participación fundamental de las hormonas sexuales. Se tiene la impresión de que los estrógenos por sí mismos no desempeñan una función importante en la etiología de la RA o la MS en el ser humano, pero tal vez lo hagan en el caso del SLE. Lo sugieren datos de que los estrógenos pueden estimular la producción de autoanticuerpos en los ratones propensos al SLE y que estos efectos son modulados por un compuesto antiestrogénico. Lo anterior implica que, al menos en el ratón, los estrógenos son capaces de desencadenar autoinmunidad del tipo del SLE. Asimismo está claro que los andrógenos como la testosterona desempeñan una función de gran importancia en algunas enfermedades autoinmunitarias. Los ratones NOD hembras son mucho más susceptibles a la diabetes espontánea, y la castración incrementa de manera significativa la susceptibilidad de los ratones NOD machos. Los ratones SJL hembras son más susceptibles a la EAE, una enfermedad murina del tipo de la MS humana. Esto indica que la testosterona podría ser eficaz para mejorar las reacciones autoinmunitarias y en consecuencia protegería contra diversas enfermedades de esta clase, entre otras MS, diabetes, SLE y síndrome de Sjögren.

El mimetismo molecular puede contribuir a la enfermedad autoinmunitaria

La suposición de que agentes microbianos o víricos desempeñan una función en la autoinmunidad resulta muy atractiva por diversos motivos. Se acepta que las poblaciones humanas migrantes adquieren las enfermedades de la región a la que se mudan, y que la incidencia de autoinmunidad se incrementa de manera impresionante conforme las poblaciones se vuelven más móviles. Esto, junto con el hecho de que está demostrado que diversos virus y bacterias poseen determinantes antigénicos idénticos o semejantes a los componentes celulares normales de la célula huésped, llevó a Michael Oldstone a proponer que un agente patógeno puede expresar una región proteínica que se parece a un componente propio particular en la configuración de la secuencia primaria. Este mimetismo molecular se observa en gran variedad de organismos (cuadro 16-3). En un estudio se sometieron a prueba 600 anticuerpos monoclonales distintos específicos para 11 virus diferentes a fin de valorar su reactividad con antígenos tisulares normales. Más de 3% de los anti-

¿Por qué los esteroides afectan las reacciones inmunitarias? La razón aún no se aclara, pero es probable que estas hormonas, que circulan por todo el cuerpo, modifiquen las reacciones inmunitarias al cambiar los patrones de expresión génica. Los esteroides sexuales, que constituyen un grupo de compuestos altamente lipófilos, funcionan pasando por la membrana celular para fijarse en un receptor citoplásmico. Cada hormona tiene un receptor afín, y la fijación de la hormona a éste da por resultado activación o, en algunos casos, represión de la expresión génica. Tal actividad es mediada por la fijación del complejo receptor-hormona a una secuencia de DNA específica. De esta manera, un estrógeno entra en la célula, se fija a su receptor e induce la fijación del receptor de estrógeno a una secuencia de DNA específica, lo que a su vez da por resultado modulación de la transcripción. Por tanto, en las células que contienen receptores de hormonas sexuales, estas hormonas pueden regular la expresión génica, y es muy probable que los esteroides sexuales desempeñen un papel importante en el sistema inmunitario por medio de sus receptores. Aún no se sabe si las diversas células del sistema inmunitario contienen receptores de hormonas; para comprender el modo en que las hormonas sexuales median las inmunorreacciones es indispensable saber cuáles células expresan cuáles receptores de hormonas.

Es posible que los efectos hormonales sobre las reacciones inmunitarias no se limiten a las hormonas sexuales esteroides. La prolactina, una hormona que se expresa en concentraciones más altas en las mujeres que en los varones, no es un miembro de la familia de los esteroides sexuales lipófilos que incluye estrógenos, progesterona y testosterona. Pero los estrógenos estimulan la secreción de prolactina (por la hipófisis anterior), lo cual explica las concentraciones más altas de prolactina en mujeres y las muy elevadas concentraciones que se observan durante el embarazo. La prolactina puede ejercer una influencia profunda sobre las reacciones inmunitarias, como se demuestra en ratones a los que se reseca el lóbulo anterior de la hipófisis: el resultado es inmunosupresión grave, que puede corregirse por completo mediante tratamiento con prolactina exógena. La presencia de receptores de prolactina sobre las células T y B periféricas en el ser humano es una prueba más de que esta hormona puede participar en la regulación de las funciones inmunitarias. De hecho, se cuenta con algunos datos que sugieren que la prolactina tiende a producir un cambio hacia las reacciones inmunitarias dominadas por células T_H1.

El embarazo ofrece un indicio respecto al modo en el que el género influye en la regulación de la reacción inmunitaria. Aunque en condiciones normales las mujeres montan una reacción inmunitaria a los antígenos extraños, durante el embarazo es fundamental que la madre tolere al feto (que en realidad es un injerto extraño). Esto hace muy probable que el sistema inmunitario de la mujer experimente modificaciones importantes durante la gestación. Recuérdese que en general las mujeres tienden a montar más reacciones del tipo de células T_H1 que del de células T_H2. Sin embargo, las mujeres montan más reacciones del tipo T_H2 durante el embarazo. Se cree que las concentraciones de esteroides sexuales relacionadas con el embarazo pueden promover un ambiente antiinflamatorio. En este sentido es notable que las enfermedades intensificadas por las reacciones del tipo T_H2, como el SLE, que tiene un poderoso componente mediado por anticuerpo, pueden exacerbarse durante la gestación, en tanto que las enfermedades que se caracterizan por reacciones inflamatorias, como RA y MS, en ocasiones mejoran en las mujeres embarazadas.

Otro efecto del embarazo es la presencia de células fetales en la circulación materna. Las células fetales pueden persistir en la circulación de la madre durante decenios, de modo que es posible que estas células de vida prolongada desempeñen una función importante en el desarrollo de enfermedad autoinmunitaria. Más aún, como el intercambio de células durante la gestación es bidireccional (también pueden aparecer células maternas en el aparato circulatorio fetal), algunos investigadores postulan que la presencia de células maternas en la circulación del feto del sexo masculino podría ser un factor contribuyente en las enfermedades autoinmunitarias.

En resumen, las mujeres y los varones difieren en grado significativo en su capacidad de montar reacciones inmunitarias. Las reacciones de las mujeres son más intensas y tienden a ser del tipo T_H1. Se informa que los estrógenos son inmunoestimulantes; tal vez esto se deba al menos en parte a la capacidad de estas hormonas de regular la expresión de genes específicos por medio del receptor de estrógenos. Más aún, la incidencia de enfermedades autoinmunitarias es mucho mayor en las mujeres que en los varones. Estas observaciones generaron la hipótesis al parecer muy convincente de que la tendencia de las mujeres a montar más reacciones del tipo T_H1 explicaría, por lo menos de manera parcial, las diferencias en la susceptibilidad a la autoinmunidad entre los géneros. Como este tipo de reacción es proinflamatoria, puede incrementar el desarrollo de autoinmunidad. Está menos claro que la tendencia hacia la reacción del tipo T_H1 se deba a diferencias en los esteroides sexuales entre varones y mujeres, pero no hay duda de que en los próximos años se efectuarán experimentos que exploren esta idea.

FUENTE: La información presentada en este enfoque clínico proviene de una carta enviada a *Science* (C. C. Whitacre, S. C. Reingold y P. A. O'Looney, 1999, *Science* 283:1277) por la Task Force on Gender, MS, and Autoimmunity, un grupo creado por la National Multiple Sclerosis Society para dialogar acerca de los aspectos del género y las enfermedades autoinmunitarias.

cuerpos específicos de virus investigados se fijaron también a los antígenos tisulares normales, lo que sugiere que el mimetismo molecular es un fenómeno muy frecuente.

El mimetismo molecular se señala como un mecanismo que culmina en autoinmunidad. Uno de los mejores ejemplos de esta clase de reacción autoinmunitaria es la encefalitis subsecuente a la vacunación contra la rabia, que se desarrolló en algunas personas que la recibieron. Antes el virus de la rabia se hacía multiplicar en cultivos de células cerebrales de conejo y los preparados de la vacuna contenían antígenos derivados de dichas células. En una persona vacunada estos antígenos de células cerebrales de conejo podían inducir la formación de anticuerpos y células T activadas, que podían reaccionar de manera cruzada con las propias células cerebrales del receptor, con encefalitis consecuente. Además se cree que los anticuerpos con reactividad cruzada son la causa de la lesión cardíaca de la fiebre reumática, que a veces ocurre tras la infección con cepas de *Streptococcus.* En este caso los anticuerpos se dirigen contra los antígenos estreptocócicos pero reaccionan de manera cruzada con los tejidos cardíacos.

CUADRO 16-3 Mimetismo molecular entre proteínas de los microorganismos infecciosos y proteínas humanas

Proteína*	Secuencia†
Citomegalovirus IE2	$_{79}$P D P L G R P D E D
Molécula HLA-DR	$_{60}$V T E L G R P D A E
Poliovirus VP2	$_{70}$S T T K E S R G T T
Receptor de acetilcolina	$_{176}$T V I K E S R G T K
Papilomavirus E2	$_{76}$S L H L E S L K D S
Receptor de insulina	$_{66}$V Y G L E S L K D L
Glucoproteína del virus de la rabia	$_{147}$T K E S L V I I S
Receptor de insulina	$_{764}$N K E S L V I S E
Nitrogenasa de *Klebsiella pneumoniae*	$_{186}$S R Q T D R E D E
Molécula HLA-B27	$_{70}$K A Q T D R E D L
Adenovirus 12 E1B	$_{384}$L R R G M F R P S Q C N
α-gliadina	$_{206}$L G Q G S F R P S Q Q N
Virus p24 de la inmunodeficiencia humana	$_{160}$G V E T T T P S
Región constante de la IgG humana	$_{466}$G V E T T T P S
Virus P3 del sarampión	$_{13}$L E C I R A L K
Corticotropina	$_{18}$L E C I R A C K
Virus P3 del sarampión	$_{31}$E I S D N L G Q E
Proteína básica de la mielina	$_{61}$E I S F K L G Q E

*En cada par, la proteína humana se encuentra en el segundo lugar. Está demostrado que las proteínas de cada par manifiestan inmunorreactividad cruzada.

†Los residuos (aminoácidos) están indicados por un código de letra única. Los residuos idénticos se muestran en color azul. Los números se refieren a la posición del aminoácido en la proteína intacta.

FUENTE: Adaptado de M. B. A. Oldstone, 1987, *Cell* **50**:819.

Se cuenta con pruebas de imitación entre MBP y péptidos víricos

El reconocimiento de los péptidos encefalitógenos de la MBP permite valorar la magnitud con que proteínas de otros organismos los imitan. Por ejemplo, un péptido de esta proteína mielínica (residuos 61 a 69) es altamente homólogo de un péptido de la proteína P3 del virus del sarampión (cuadro 16-3). En un estudio se comparó la secuencia de otro péptido encefalitógeno de la MBP (secuencia 66 a 75) con las secuencias conocidas de gran número de proteínas víricas. El análisis de computadora reveló homologías de las secuencias entre este péptido de la MBP y diversos péptidos de virus de animales, como virus de gripe, polioma, adenovirus, sarcoma de Rous, leucemia de Abelson, poliomielitis, virus de Epstein-Barr y virus de la hepatitis B.

Fue en particular notable un péptido de la enzima polimerasa del virus de la hepatitis B que manifiesta homología de 60% con una secuencia del péptido encefalitógeno de la MBP. Para someter a prueba la hipótesis de que el mimetismo molecular puede generar autoinmunidad, se inmunizaron conejos con este péptido del virus de la hepatitis B. Se demostró que el péptido inducía tanto formación de anticuerpo como proliferación de células T que reaccionaban de manera cruzada con la MBP; asimismo el tejido del sistema nervioso central de los conejos inmunizados mostró la infiltración celular característica de la EAE.

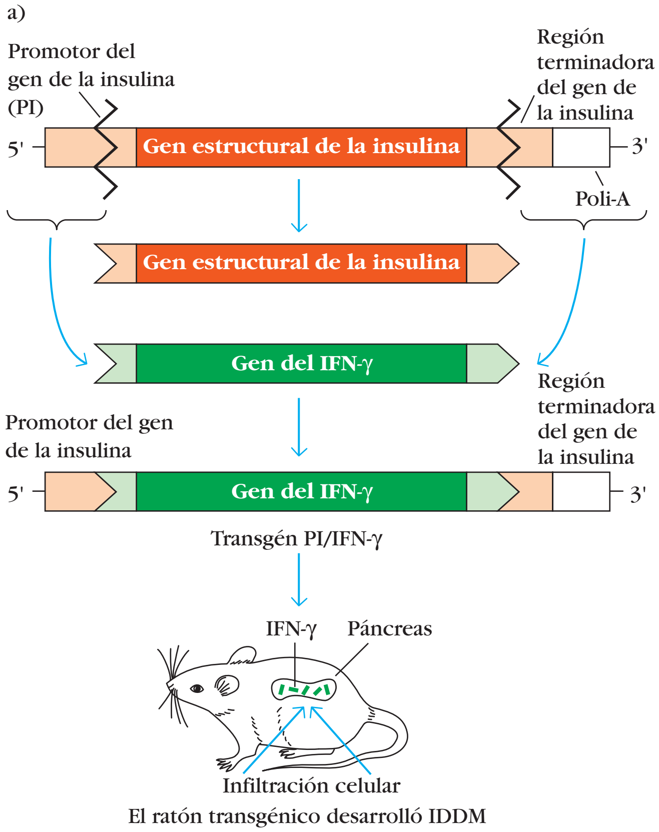
Estos datos sugieren que la infección por ciertos virus que expresan epítopos imitadores de componentes propios secuestrados, como la proteína básica de la mielina, puede inducir autoinmunidad contra esos componentes. La susceptibilidad a este tipo de autoinmunidad también puede estar influida por el haplotipo MHC del individuo porque ciertos tipos de moléculas MHC clases I y II pueden ser más eficaces que otros en la presentación del péptido homólogo para la activación de las células T.

Otro ejemplo de mimetismo molecular de gran interés proviene de estudios de la queratinitis estromal del herpes (HSK, del inglés *herpes stromal keratinitis*). En estos estudios los investigadores demostraron que la infección previa del ratón con virus del herpes simple del tipo 1 ocasiona la HSK, un padecimiento de tipo autoinmunitario en el que células T específicas de un péptido vírico particular atacan el tejido corneal y causan ceguera. Estos datos demostraron con mucha claridad que un epítopo particular del HSV-1 es el causante de la enfermedad, y que las cepas mutantes de HSV-1 que carecen de este epítopo no producen HSK. La información disponible proporciona pruebas sólidas de mimetismo molecular en el desarrollo de una enfermedad autoinmunitaria específica.

La expresión inapropiada de moléculas MHC clase II puede sensibilizar las células T autorreactivas

Las células β pancreáticas de individuos con diabetes mellitus insulinodependiente (IDDM) expresan concentraciones elevadas de moléculas MHC clase I y clase II, en tanto que las células β sanas expresan concentraciones bajas de moléculas MHC clase I pero no expresan moléculas clase II. De manera similar, se observa que las células acinares tiroideas de quienes sufren enfermedad de Graves expresan moléculas MHC clase II en sus membranas. Esta expresión inapropiada de moléculas MHC clase II, que en condiciones normales ocurre sólo sobre las células presentadoras de antígeno, puede servir para sensibilizar las células T_H a péptidos derivados de las células β pancreáticas o las células tiroideas, lo que permite la activación de las células B o T_C, o la sensibilización de las células T_H1 a los antígenos propios.

Otras pruebas sugieren que ciertos agentes pueden inducir a determinadas células que no deben expresar moléculas MHC clase II a expresarlas. Por ejemplo, se ha demostrado que el mitógeno de células T fitohemaglutinina (PHA, del inglés *phytohemagglutinin*) induce la expresión de moléculas clase II por las células tiroideas. Estudios in vitro revelan que también el IFN-γ induce aumentos de la concentración de moléculas MHC sobre gran variedad de células, como células β pancreáticas, epiteliales intestinales, de melanoma y acinares tiroideas. Se planteó la hipótesis de que el traumatismo o la infección vírica de un órgano pueden inducir una reacción inflamatoria localizada y por tanto aumento de las concentraciones de IFN-γ en el órgano afectado. Si el IFN-γ induce la expresión de MHC clase II sobre células no presentadoras de antígeno, podría sobrevenir la activación inapropiada de células T_H con consecuencias autoinmunitarias. Es notable que los pacientes con SLE activo tienen títulos más elevados de IFN-γ que quienes sufren la enfermedad inactiva. Estos datos sugirieron que el aumento del IFN-γ en tales individuos puede ocasionar la expresión inapropiada de moléculas MHC clase II y, como consecuencia, la activación de las células T contra diversos autoantígenos.



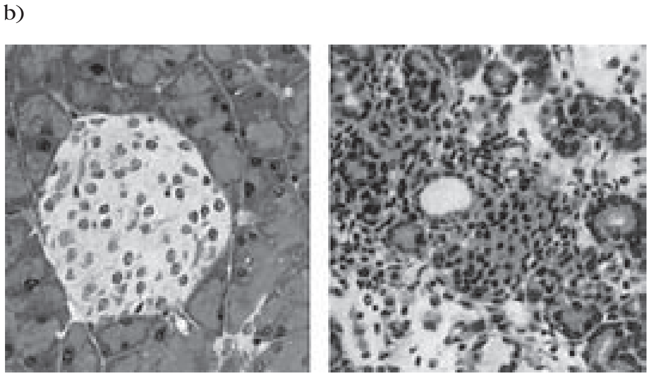


FIGURA 16-13 Diabetes mellitus insulinodependiente (IDDM) en ratones transgénicos. a) Producción de ratones transgénicos que contienen el transgén del IFN-γ enlazado con el promotor de insulina (PI). Los animales transgénicos, que expresaron el transgén PI/IFN-γ sólo en el páncreas, desarrollaron síntomas característicos de IDDM. b) Islotes pancreáticos de Langerhans de un ratón BALB/c normal (*izquierda*) y de un ratón transgénico PI/IFN-γ a las tres semanas (*derecha*) que muestra infiltración de células inflamatorias. *[Parte b tomada de N. Sarvetnick, 1988, Cell* ***52****:773.]*

Un interesante sistema murino transgénico señala la participación del IFN-γ y la expresión inapropiada de MHC clase II en la autoinmunidad. En este sistema, un transgén de IFN-γ se sometió a ingeniería genética con el promotor de la insulina, de modo que los ratones transgénicos secretaran IFN-γ desde sus células β pancreáticas (fig. 16-13a). Como el IFN-γ estimula la expresión de MHC clase II, estos ratones transgénicos expresaban también tales moléculas en sus células β pancreáticas. Los ratones desarrollaron diabetes, que se acompañó de infiltración de linfocitos y células inflamatorias similar a la que se observa en ratones NOD autoinmunes y en pacientes con diabetes mellitus insulinodependiente (fig. 16-13b).

Aunque la expresión inapropiada de MHC clase II sobre las células β pancreáticas puede participar en la reacción autoinmunitaria de estos ratones transgénicos, también es posible que participen otros factores. Por ejemplo, se sabe que el IFN-γ induce producción de otras diversas citocinas, inclusive IL-1 y TNF. Por tanto es posible que el desarrollo de autoinmunidad en este sistema transgénico comprenda la presentación de antígeno por moléculas MHC clase II sobre las células β pancreáticas junto con una señal coestimuladora, como IL-1, que puede activar células autorreactivas. También se cuenta con datos que sugieren que IL-1, IFN-γ y TNF pueden trastornar de manera directa la función secretora de las células β humanas.

La activación de las células B policlonales puede ocasionar enfermedad autoinmunitaria

Diversos virus y bacterias pueden inducir la activación de células B policlonales inespecíficas. Se sabe que bacterias gramnegativas, citomegalovirus y virus de Epstein-Barr (EBV) son activadores policlonales de esta clase que inducen proliferación de numerosas clonas de células B que expresan IgM en ausencia de células T_H. Si las células B reactivas a ciertos autoantígenos se activan por este mecanismo, pueden aparecer autoanticuerpos. Por ejemplo, durante la mononucleosis infecciosa, que es causada por el EBV, se producen diversos autoanticuerpos, inclusive autoanticuerpos reactivos contra células T y B, factores reumatoides y anticuerpos antinucleares. De manera similar, los linfocitos de pacientes con SLE producen grandes cantidades de IgM en cultivo, lo que sugiere que se activan de manera policlonal. Muchos individuos con SIDA muestran también concentraciones elevadas de anticuerpo inespecífico y autoanticuerpos contra eritrocitos y plaquetas. Con frecuencia estos pacientes están coinfectados por otros virus como EBV y citomegalovirus, que pueden inducir activación de las células B policlonales que conduce a la producción de autoanticuerpos.

Tratamiento de las enfermedades autoinmunitarias

El tratamiento ideal de las enfermedades autoinmunitarias debe tener como finalidad reducir sólo la reacción autoinmunitaria en tanto que deja intacto el resto del sistema inmunitario. Este ideal aún no se satisface.

Los tratamientos actuales para las enfermedades autoinmunitarias no son medios curativos sino simplemente paliativos, dirigidos a reducir los síntomas y permitir al paciente una calidad de vida aceptable. A menudo se administran fármacos inmunosupresores (p. ej., corticosteroides, azatioprina y ciclofosfamida) con objeto de volver más lenta la proliferación de los linfocitos. Al deprimir la reacción inmunitaria en general, estos fármacos pueden reducir la gravedad de los síntomas de autoinmunidad. Sin embargo, la reducción general de la reactividad inmunitaria coloca al paciente en mayor peligro aún de desarrollar infección o incluso cáncer. Un enfoque un tanto más selectivo es el que recurre a **ciclosporina A** o FK506 para tratar la autoinmunidad. Estos agentes bloquean la transducción de señales mediada por el receptor de la célula T; de esta manera sólo inhiben las células T activadas contra antígeno mientras dejan indemnes las que no están activadas. La mayor parte de estos tratamientos ofrece supresión inespecífica del sistema inmunitario y en consecuencia no distingue entre reacción autoinmunitaria patológica e inmunorreacción protectora.

Otro criterio terapéutico que produce resultados positivos en algunos casos de miastenia grave es la extirpación del timo. Como los pacientes con esta enfermedad a menudo tienen anormalidades tímicas (p. ej., hiperplasia tímica o timomas), con frecuencia la timectomía del adulto incrementa la probabilidad de que los síntomas remitan. Los pacientes con enfermedad de Graves, miastenia grave, artritis reumatoide o lupus eritematoso sistémico pueden experimentar beneficios a corto plazo con la plasmaféresis. Durante este proceso se retira plasma de la sangre del paciente mediante centrifugación de flujo continuo. Después las células sanguíneas se resuspenden en un medio adecuado y se devuelven al paciente. La plasmaféresis es benéfica para los pacientes con enfermedades autoinmunitarias que comprenden complejos antígeno-anticuerpo, que se retiran del paciente junto con el plasma. La remoción de los complejos, aunque sólo temporal, puede resultar en reducción de los síntomas a corto plazo.

El tratamiento de las enfermedades autoinmunitarias del ser humano plantean desafíos especiales

Los estudios con modelos animales de autoinmunidad experimental han aportado pruebas de que es posible detener el avance de la autoinmunidad. Se han usado con éxito anticuerpos monoclonales para tratar enfermedades autoinmunitarias en varios modelos animales. Por ejemplo, de un grupo de ratones (NZB × NZW) F_1 a los que se administraron inyecciones semanales de dosis elevadas de anticuerpo monoclonal específico para la molécula de membrana CD4, un alto porcentaje se recuperó de sus síntomas autoinmunitarios tipo lupus (fig. 16-14). Se observaron resultados positivos similares en ratones NOD en los que el tratamiento con el anticuerpo monoclonal CD4 hizo desaparecer la infiltración linfocítica y los síntomas de diabetes.

Dado que los anticuerpos monoclonales bloquean o agotan todas las células T_H, sin importar su especificidad, pueden poner en peligro la inmunorreactividad general del receptor. Por ésta y otras razones, pocos de los tratamientos aplicados en sistemas modelo han sido exitosos en el tratamiento de enfermedades del ser humano. Una limitación importante es la de identificar la enfermedad en una fase en que sea susceptible de tratamiento. Los modelos animales de autoinmunidad inducida en que se administra un antígeno inductor o aquéllos en que determinados defectos genéticos de manera predecible causan una enfermedad en una etapa del desarrollo definida permiten observar procesos tempranos en el desarrollo del trastorno. Las medidas inhibitorias aplicadas en estas fases iniciales impiden el avance de la enfermedad y dan indicios sobre los procesos patológicos. En contraste, la enfermedad autoinmunitaria del ser humano suele detectarse por la aparición de signos de lesión avanzada; el trastorno ha rebasado la etapa en que las medidas inhibitorias son eficaces. Por ejemplo, en el ser humano la diabetes no suele diagnosticarse sino hasta que los problemas son evidentes, como altos valores de glucosa sanguínea e indicios de deficiencia de insulina. Los sucesos iniciales de la enfermedad son asintomáticos y pasan inadvertidos, de modo que se pierden las oportunidades de intervención.

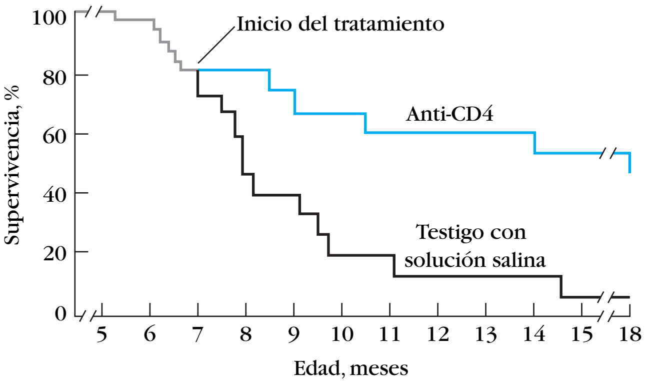


FIGURA 16-14 Las inyecciones semanales de anticuerpo monoclonal anti-CD4 administradas a ratones F_1 (NZB × NZW) que exhibían síntomas tipo lupus autoinmunitario incrementaron de manera notable la supervivencia. *[Adaptada de D. Wofsy, 1988,* Progress in Allergy ***45:****106.*]

Otro problema es que los modelos animales no son predictores perfectos de la reacción en el ser humano. Aunque los anticuerpos anti-CD4 revirtieron con éxito la MS y la artritis en modelos animales, los ensayos de este tratamiento en personas no han sido eficaces hasta la fecha. Además de los problemas citados, un posible motivo de esta falla es que el anti-CD4 podría interferir en la actividad de las células T reguladoras $CD4^+/CD25^+$, impidiendo que controlen la actividad autoinmunitaria.

La inflamación es un blanco del tratamiento de la autoinmunidad

La inflamación crónica es un signo distintivo de autoinmunidad debilitante, lo cual hace de los procesos proinflamatorios un blanco para la intervención. Recuérdese que la inflamación tiene varias etapas, como la liberación de citocina y el reclutamiento de leucocitos. El reclutamiento de células en el sitio de inflamación implica la extravasación (cap. 3), que es posible gracias a la adhesión de leucocitos a las paredes vasculares mediada por proteínas de la familia de las integrinas. Un bloqueador de la integrina α4β1 fue promisorio inicialmente en el tratamiento de la MS, pero las infecciones resistentes en algunos sujetos de prueba hicieron que se suspendiera el fármaco. Una proporción riesgo-beneficio más aceptable se observa en el caso de los bloqueadores del TNF-α. Los fármacos etanercept, infliximab y adalimumab atacan el TNF-α y se usan ampliamente en artritis reumatoide, psoriasis, enfermedad de Crohn y espondilitis anquilosante. Se estudian varias otras estrategias para reducir o prevenir la inflamación. Un antagonista de receptor de IL-1 está aprobado para el tratamiento de la artritis reumatoide, al igual que algunos anticuerpos dirigidos contra el receptor de IL-6 y contra IL-5.

Recientemente se demostró que la clase de fármacos denominados *estatinas*, usados por millones de personas para reducir las concentraciones de colesterol, reducen los valores séricos de proteína C reactiva, una proteína de fase aguda e indicador de inflamación (véase el enfoque clínico del capítulo 3). Los ensayos preliminares con estatinas para el tratamiento de la artritis reumatoide y la MS han tenido resultados alentadores. El uso de fármacos ya aprobados para el ser humano y para los cuales se dispone de extensos datos de seguridad constituye una tremenda ventaja, considerando que 95% de los agentes que se someten a ensayos con seres humanos fallan, en algún punto del proceso de aprobación.

Otro agente considerado para el tratamiento de la autoinmunidad es el anticuerpo monoclonal rituximab que destruye células B al unirse al marcador de superficie CD20. Actualmente está aprobado para tratar el linfoma no Hodgkin de células B. Dado que los anticuerpos tienen un papel importante en determinadas enfermedades autoinmunitarias como MS, artritis reumatoide y SLE, el agotamiento de las células B podría ser benéfico. Se ha probado la eficiencia de rituximab en estas condiciones, y los resultados preliminares indican éxito en el control de la artritis reumatoide.

Las células T activadas son un posible blanco terapéutico

Una desventaja importante de los tratamientos inmunosupresores para enfermedades autoinmunitarias es que tornan al hospedador susceptible a las infecciones al reducir su inmunidad en general. Una manera de remediar esta desventaja consiste en bloquear sólo las células T_H activadas por antígeno, dado que éstas son mediadores importantes de la autoinmunidad. Los investigadores han experimentado con el uso de anticuerpo monoclonal dirigido contra la subunidad α del receptor de IL-2 de alta afinidad, el cual sólo es expresado por células T_H activadas por antígeno. Dado que la subunidad α del IL-2R (CD25) se expresa en mayores concentraciones en células T autoinmunitarias, el anticuerpo monoclonal contra la subunidad α (anti-CD25) podría bloquear de manera preferencial células T autorreactivas. Este enfoque fue probado en ratas adultas, a las que en presencia o ausencia de anti-CD25 se inyectó con células T específicas de MBP activadas. Todas las ratas testigo murieron de EAE, mientras que seis de las nueve tratadas con anti-CD25 no presentaban síntomas y en las otras éstos fueron leves. Una posible desventaja de este tratamiento es el efecto negativo potencial en las células T_{reg}, que expresan altas concentraciones de la subunidad α del IL-2R.

La vinculación de enfermedad autoinmunitaria con componentes específicos de TCR en algunos modelos animales estimuló a los investigadores a aclarar si el bloqueo de los receptores preferidos con anticuerpo monoclonal podría tener beneficios terapéuticos. La inyección de anticuerpo monoclonal específico para el receptor V_β 8.2 de células T a ratones PL/J previno la inducción de EAE por la MBP administrada en coadyuvante. Más promisorio aún es el descubrimiento de que el anticuerpo monoclonal V_β 8.2 también puede revertir los síntomas de autoinmunidad en los ratones que manifiestan EAE inducida (fig. 16-15) y que estos ratones experimentan remisión a largo plazo. Es indudable que el empleo de anticuerpos monoclonales para tratar las enfermedades autoinmunitarias humanas ofrece posibilidades excitantes.

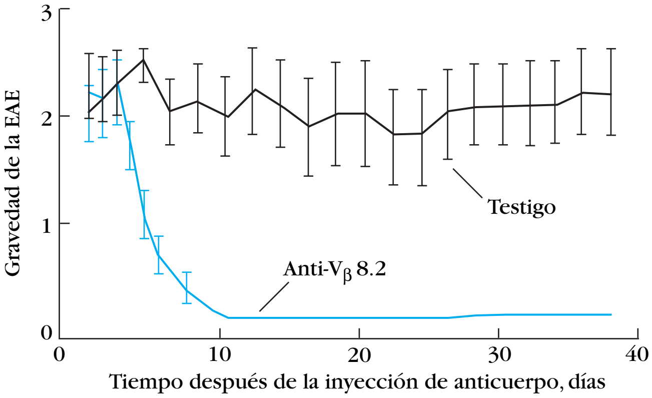


FIGURA 16-15 La inyección de anticuerpo monoclonal contra el receptor de la célula T V_β 8.2 a ratones PL/J que manifestaban síntomas de EAE produjo la remisión casi completa de éstos. La EAE se indujo mediante inyección de clonas de células T específicas de MBP a los ratones. Escala de gravedad de la EAE: 3 = parálisis total de las extremidades inferiores; 2 = parálisis parcial de las extremidades inferiores; 1 = parálisis del rabo; 0 = normal (sin síntomas). *[Adaptada de H. Acha-Orbea et al., 1989* Annual Review of Immunology ***7****:371.]*

Del mismo modo, la relación de diversos alelos MHC con la autoinmunidad, y los indicios de expresión aumentada o inapropiada de MHC en algunas enfermedades autoinmunitarias, ofrecen la posibilidad de que los anticuerpos monoclonales contra las moléculas apropiadas de MHC retrasen el desarrollo de la autoinmunidad. Más aún, como las células presentadoras de antígeno expresan muchas moléculas diferentes de MHC clase II, en teoría debe ser posible bloquear en forma selectiva una molécula MHC relacionada con la autoinmunidad en tanto se dejan indemnes las demás. En un estudio, la inyección de anticuerpos monoclonales contra moléculas MHC clase II a ratones antes de inyectarles MBP bloqueó el desarrollo de EAE. En cambio, la administración del anticuerpo después de la inyección de MBP retrasó el desarrollo de EAE pero no previno su ocurrencia. Está demostrado que los anticuerpos monoclonales contra HLA-DR y HLA-DQ invierten la EAE en primates distintos del ser humano.

Los antígenos orales pueden inducir tolerancia

La administración de antígenos por vía oral tiende a inducir el estado de falta de respuesta inmunitaria o tolerancia. Por ejemplo, como se mencionó antes, los ratones que reciben MBP con los alimentos no desarrollan EAE después de la inyección subsecuente de MBP. Lo anterior llevó a efectuar una prueba piloto doble ciega en la que 30 individuos con fibrosis múltiple recibieron junto con los alimentos placebo o 300 mg de mielina bovina todos los días durante un año. Los resultados de este estudio revelaron que las células T específicas de la MBP se redujeron en el grupo que recibió mielina con los alimentos; además se observaron datos sugerentes de que los síntomas de MS disminuían en los receptores del sexo masculino (aunque la reducción careció de significancia estadística), pero no en las mujeres receptoras. Los resultados de la inducción de tolerancia oral en ratones son más promisorios en ratones que en seres humanos. Sin embargo, los estudios clínicos en seres humanos se encuentran en sus primeras etapas, y es posible que los péptidos empleados hasta ahora y las dosis no sean los más eficaces. Dado que este enfoque parece ser promisorio a juzgar por los estudios en animales, es probable que se efectúen más pruebas clínicas sobre esta materia durante los próximos años.

RESUMEN

- Una tarea importante del sistema inmunitario es distinguir lo propio de lo extraño. La incapacidad de hacerlo da por resultado ataques inmunitarios contra células y órganos del hospedador, con el posible inicio de enfermedad autoinmunitaria.
- Los mecanismos que impiden la autorreactividad, llamados en conjunto tolerancia, operan a varios niveles. La tolerancia central elimina linfocitos T o B autorreactivos; la tolerancia periférica desactiva linfocitos autorreactivos que sobreviven al proceso inicial de detección.
- Las enfermedades autoinmunitarias humanas pueden clasificarse en específicas de órganos y sistémicas. Las enfermedades específicas de órganos se caracterizan por una reacción autoinmunitaria dirigida sobre todo contra un órgano o una glándula determinados. Las enfermedades sistémicas se dirigen contra un amplio espectro de tejidos.
- Se cuenta con modelos animales tanto espontáneos como experimentales de enfermedades autoinmunitarias. Los trastornos autoinmunitarios espontáneos resultan de defectos genéticos, mientras que los modelos animales experimentales se han desarrollado mediante la inmunización de animales con autoantígenos en presencia de coadyuvante.
- Los estudios con modelos animales autoinmunitarios experimentales revelan una función central de las células T_H $CD4^+$ en el desarrollo de la autoinmunidad. Es posible aislar clonas de células T autoinmunitarias que inducen enfermedad de esta clase en animales normales. El haplotipo MHC del animal de experimentación determina la capacidad de presentar diversos autoantígenos a las células T_H.
- El número relativo de células T_H1 y T_H2 parece desempeñar un papel de primer orden en el desarrollo de la autoinmunidad: las células T_H1 promueven tal desarrollo, en tanto que las células T_H2 parecen bloquear tanto el desarrollo como el avance de la enfermedad autoinmunitaria.
- Se han propuesto diversos mecanismos para la inducción de autoinmunidad, como liberación de antígenos secuestrados, mimetismo molecular y expresión inapropiada de MHC clase II en las células. Se cuenta con pruebas de que cada uno de estos mecanismos actúa, lo que refleja las muchas maneras distintas en que las reacciones autoinmunitarias se producen.
- Los tratamientos actuales para las enfermedades autoinmunitarias consisten en administración de fármacos inmunosupresores, timectomía y plasmaféresis para las enfermedades en las que participan inmunocomplejos. Los bloqueadores del TNF-α han tenido éxito para controlar artritis reumatoide, enfermedad de Crohn y psoriasis.

Bibliografía

Anderson, M. S., et al. 2005. The cellular mechanism of Aire control of T cell tolerance. *Immunity* **23:**227.

Benoist, C., and D. Matis. 2001. Autoimmunity provoked by infection: how good is the case for T cell epitope mimicry? *Nature Immunology* **2:**797.

Feldman, M., and L. Steinman. 2005. Design of effective immunotherapy for human autoimmunity. *Nature* **435:**612.

Goodnow, C. C., et al. 2005. Cellular and genetic mechanisms of self tolerance and autoimmunity. *Nature* **435:**590.

Hafler, D. A., et al. 2005. Multiple sclerosis. *Immunological Reviews* **204:**208.

Hausmann, S., and K. W. Wucherpfenning. 1997. Activation of autoreactive T cells by peptides from human pathogens. *Current Opinion in Immunology* **9:**831.

Hogquist, K. A., T. A. Baldwin, and S. C. Jameson. 2005. Central tolerance: learning self-control in the thymus. *Nature Reviews Immunology* **5:**772.

Horwitz, M. S., et al. 1998. Diabetes induced by Coxsackie virus: initiation by bystander damage and not molecular mimicry. *Nature Medicine* **4:**781.

Jacobi, A. M., and B. Diamond. 2005. Balancing diversity and tolerance: lessons from patients with systemic lupus erythematosus. *Journal of Experimental Medicine* **202:**341.

Levin, M. C., et al. 2002. Autoimmunity due to molecular mimicry as a cause of neurological disease. *Nature Medicine* **8:**509.

Liblau, R. S., S. M. Singer, and H. O. McDevitt. 1995. T_H1 and T_H2 $CD4^+$ T cells in the pathogenesis of organ-specific autoimmune diseases. *Immunology Today* **16:**34.

Lockshin, M. D. 1998. Why women? *Journal of the American Medical Women's Association* **53:**4.

Mathis, D. 2005. *Lymphocyte Tolerance: Central Is Central.* Harvey Lectures, Series 99. Willey-Liss, Hoboken, NJ, p. 95.

O'Garra, A., L. Steinman, and K. Gijbels. 1997. $CD4^+$ T-cell subsets in autoimmunity. *Current Opinion in Immunology* **9:**872.

Paust, S., and H. Cantor. 2005. Regulatory T cells and autoimmune disease. *Immunological Reviews* **204:**195.

Riox, J. D., and A. K. Abbas. 2005. Paths to understanding the genetic basis of autoimmune disease. *Nature* **435:**584.

Sakaguchi, S. 2004. Naturally arising $CD4^+$ regulatory T cells for immunologic self-tolerance and negative control of immune responses. *Annual Review of Immunology* **22:**531.

Silverstein, A. M., and N. R. Rose. 1997. On the mystique of the immunological self. *Immunological Reviews* **159:**197.

Streilein, J. W., M. R. Dana, and B. R. Ksander. 1997. Immunity causing blindness: five different paths to herpes stromal keratitis. *Immunology Today* **18:** 443.

Vyse, T. J., and B. L. Kotzin. 1998. Genetics susceptibility to systemic lupus erythematosus. *Annual Review of Immunology* **16:**261.

Weiner, H. L., et al. 1993. Double-blind pilot trial of oral tolerization with myelin antigens in multiple sclerosis. *Science* **259:**1321.

Wucherpfennig, K. W. 2001. Mechanisms for the induction of autoimmunity by infectious agents. *Journal of Clinical Investigation* **108:**1097.

Zhao, Z-S, et al. 1998. Molecular mimicry by herpes simplex virus type-1: autoimmune disease after viral infection. *Science* **279:**1344.

Sitios útiles de la red

http://www.lupus.org/index.html

El sitio de la Lupus Foundation of America contiene información valiosa para los pacientes y los miembros de su familia, así como información actualizada de la investigación en este campo.

http://www.nih.gov/niams/

Página del National Institute of Arthritis and Musculoskeletal and Skin Diseases. Contiene enlaces con otras páginas referentes a artritis.

http://www.niddk.nih.gov/

Página del National Institute for Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. Contiene una lista exhaustiva de referencias a otras páginas de diabetes.

Preguntas de estudio

Pregunta de enfoque clínico ¿Cuáles son algunas de las posibles razones de que las mujeres sean más susceptibles a las enfermedades autoinmunitarias que los varones?

1. Explique por qué no todos los linfocitos autorreactivos se eliminan en el timo o la médula ósea. ¿Cómo se impide que aquellos sobrevivientes que reaccionan a lo propio dañen al hospedador?

2. ¿Por qué es crítica la tolerancia para el funcionamiento del sistema inmunitario?

3. ¿Cuál es la importancia de la edición de receptor para la tolerancia de células B?

4. Para cada una de las siguientes enfermedades autoinmunitarias (a-l), seleccione la característica más apropiada (1-12).

   Enfermedades

   a. ________ Encefalitis autoinmunitaria experimental (EAE)
   b. ________ Síndrome de Goodpasture
   c. ________ Enfermedad de Graves
   d. ________ Lupus eritematoso sistémico (SLE)
   e. ________ Diabetes mellitus insulinodependiente (IDDM)
   f. ________ Artritis reumatoide
   g. ________ Tiroiditis de Hashimoto
   h. ________ Miastenia grave autoinmunitaria experimental (EAMG)
   i. ________ Miastenia grave
   j. ________ Anemia perniciosa
   k. ________ Esclerosis múltiple
   l. ________ Anemia hemolítica autoinmunitaria

   Características

   1) Autoanticuerpos contra el factor intrínseco que bloquean la absorción de vitamina B_{12}
   2) Autoanticuerpos contra el receptor de acetilcolina
   3) Reacción de la célula T_H1 a los antígenos tiroideos
   4) Autoanticuerpos contra los antígenos eritrocíticos
   5) Reacción de la célula T a la mielina
   6) Padecimiento inducido por inyección de proteína básica de mielina más coadyuvante de Freund completo
   7) Autoanticuerpo contra IgG
   8) Autoanticuerpos contra la membrana basal
   9) Autoanticuerpos contra el DNA y la proteína relacionada con éste
   10) Autoanticuerpos contra el receptor de la hormona estimulante del tiroides
   11) Trastorno inducido por inyección de receptores de acetilcolina
   12) Reacción de células T_H1 a las células β pancreáticas

5. La encefalitis autoinmunitaria experimental (EAE) proporciona un modelo animal de utilidad de los trastornos autoinmunitarios.

   a. Describa cómo se elabora este modelo animal.
   b. ¿Qué es inusual respecto a los animales que se recuperan de la EAE?
   c. ¿De qué manera este modelo animal indicó una función de las células T en el desarrollo de autoinmunidad?

6. El mimetismo molecular es un mecanismo propuesto para explicar el desarrollo de autoinmunidad. ¿Cómo contribuye la inducción de EAE con proteína básica de mielina a la comprensión del mimetismo molecular en las enfermedades autoinmunitarias?

7. Describa cuando menos tres mecanismos diferentes por los que la infección vírica localizada podría contribuir al desarrollo de una enfermedad autoinmunitaria específica de órgano.

8. Los ratones transgénicos que expresan el transgén del IFN-γ enlazado con el promotor de insulina desarrollaron diabetes.

   a. ¿Por qué se empleó el promotor de insulina?
   b. ¿Cuál es la prueba de que la diabetes de estos ratones se debe a lesión autoinmunitaria?
   c. ¿Qué es lo raro respecto a la expresión de MHC en este sistema?
   d. ¿De qué manera imita este sistema sucesos que podrían deberse a una infección vírica localizada en el páncreas?

9. Se administran anticuerpos monoclonales para el tratamiento en diversos modelos animales de autoinmunidad. ¿Qué anticuerpos monoclonales se emplean y cuál es el fundamento de este criterio?

10. Indique si cada una de las afirmaciones que siguen es verdadera o falsa. Si cree que es falsa, explique el motivo.

    a. Las células T_H1 se relacionan con desarrollo de autoinmunidad.
    b. La inmunización de ratones con IL-12 previene la inducción de EAE por la inyección de proteína básica de mielina más coadyuvante.
    c. La presencia del alelo *HLA-B27* es diagnóstica de espondilitis anquilosante, una enfermedad autoinmunitaria que afecta las vértebras.

d. Los individuos con anemia perniciosa producen anticuerpos contra el factor intrínseco.
e. Un defecto en el gen que codifica la proteína Fas puede reducir la muerte celular programada (apoptosis).

11. Para cada uno de los siguientes trastornos autoinmunitarios (a-d), indique cuál de los enunciados (1-5) podría ser apropiado:

Enfermedad

a. tiroiditis de Hashimoto
b. Lupus eritematoso sistémico
c. Enfermedad de Graves
d. Miastenia grave

Tratamiento

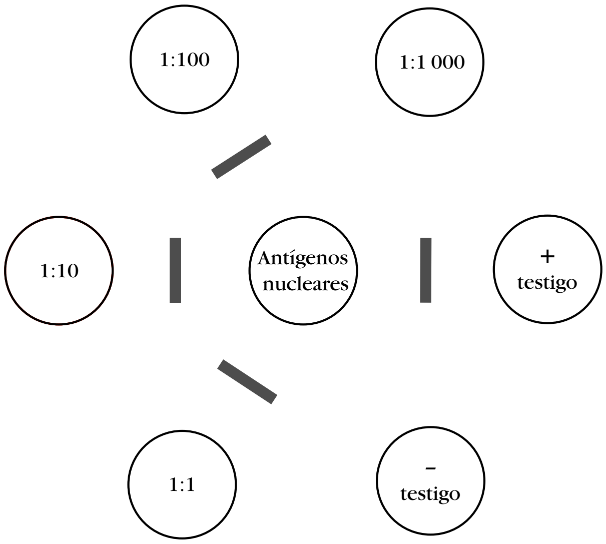
1. Ciclosporina A
2. Timectomía
3. Plasmaféresis
4. Trasplante renal
5. Hormonas tiroideas

12. Como se expuso en el capítulo 7, las deficiencias en los componentes C1q, C1r, C1s, C4 o C2 del complemento pueden contribuir al desarrollo de lupus eritematoso sistémico. Sin embargo, los pacientes con SLE exhiben activación del complemento excesiva. Explique cómo es que ambas observaciones pueden ser ciertas.

13. ¿Cuál o cuáles de los siguientes son ejemplos de mecanismos para el desarrollo de autoinmunidad? Para cada posibilidad dé un ejemplo.

a. Activación de células B policlonales
b. Lesión tisular
c. Infección vírica
d. Mayor expresión de moléculas de TCR
e. Mayor expresión de moléculas MHC clase II

14. La figura adjunta es un ensayo de doble inmunodifusión (método de Ouchterlony) después de varios días de incubación, en el que se evaluó a un paciente en busca de enfermedad autoinmunitaria. El recipiente del centro se cargó con una solución que contenía una mezcla de antígenos nucleares (nucleosomas y empalmosomas). El suero del paciente se diluyó varias veces y se colocó en los recipientes externos (se indican las diluciones).

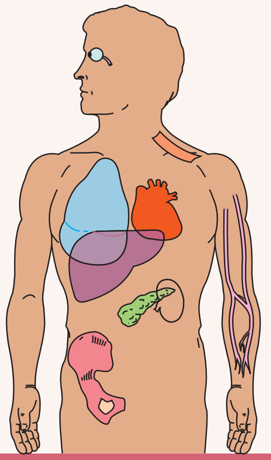


Un testigo positivo (histonas antihumanas murinas) se colocó en un recipiente, y un testigo irrelevante (suero humano normal) en otro.

a. Con base en el ensayo, ¿cuál de los siguientes enunciados es verdadero para este paciente?
   1. El paciente es normal porque es normal expresar anticuerpos contra proteínas nucleares del propio suero.
   2. Es probable que el paciente sea varón y presente síndrome de Goodpasture.
   3. El paciente sufre de alergias graves.
   4. Es posible que el paciente sufra SLE, y es más probable que sea mujer.
b. ¿Cuál fue el título del paciente?
c. ¿Cuál de los siguientes es un experimento que el lector podría realizar para verificar los resultados de la figura?
   1. ELISA directo con placas recubiertas de antígenos nucleares.
   2. Ensayo de inmunofluorescencia con cortes de tejido o células humanas permeabilizadas.
   3. Western blots con proteínas nucleares sobre gel, con suero como Ab primario.

capítulo 17

Inmunología de los trasplantes



Trasplantes practicados de manera sistemática en el ejercicio clínico.

- Bases inmunitarias del rechazo de injertos
- Manifestaciones clínicas del rechazo de injertos
- Tratamiento inmunosupresor general
- Tratamiento inmunosupresor específico
- Inmunotolerancia a los aloinjertos
- Trasplante clínico

EL TÉRMINO *TRASPLANTE*, DEL MODO EN QUE SE EMPLEA EN inmunología, se refiere al acto de transferir células, tejidos u órganos desde un sitio hacia otro. La realización de los trasplantes se justifica por la posibilidad de resolver muchas enfermedades mediante implantación (injerto) de un órgano, un tejido o ciertas células sanos desde un individuo (donante) hacia otro (receptor u hospedador). El desarrollo de técnicas quirúrgicas que permiten la fácil reimplantación de órganos ha eliminado una barrera al trasplante con buenos resultados, pero aún quedan otras. Una es la escasez de órganos para los trasplantes. Aunque hay disponibilidad de órganos de quienes mueren víctimas de accidentes y, en algunos casos, de donantes vivos, son más los pacientes que los necesitan que los órganos disponibles. La gravedad de la escasez de donantes de órganos se refleja en la lista de espera para el trasplante de órganos existente en abril de 2006 en Estados Unidos, constituida por un estimado de 91 700 individuos. La mayoría de quienes se encontraban en esa lista (~70%) requería un riñón; en la actualidad, el período de espera para obtener este órgano es de unos 800 días. Aunque la escasez de órganos para trasplante es un problema grave, la barrera más formidable contra la ejecución de este procedimiento como medio de tratamiento médico habitual es el sistema inmunitario. Este sistema ha evolucionado al grado de producir mecanismos complejos y eficaces para proteger al organismo contra el ataque de agentes extraños; estos mismos mecanismos son los causantes del rechazo de los injertos provenientes de cualquier ser vivo que no sea idéntico desde el punto de vista genético al receptor.

Alexis Carrel publicó el primer estudio sistemático del trasplante en 1908; este investigador intercambió ambos riñones en una serie de nueve gatos. Algunos de los animales que recibieron ambos riñones de otros gatos conservaron la excreción urinaria hasta durante 25 días. Aunque todos los gatos murieron al final después de ese plazo, el experimento demostró que un órgano trasplantado podía efectuar su función normal en el receptor. El primer trasplante de riñón humano, intentado por un cirujano ruso en 1935, fracasó porque había incompatibilidad de grupo sanguíneo entre el donante y el receptor. Esta incompatibilidad produjo rechazo casi inmediato del riñón, y el paciente falleció sin haber recuperado su funcionamiento renal. La rápida inmunorreacción experimentada en este caso, que se denomina rechazo hiperagudo, es mediada por anticuerpos; se describe en este capítulo. En 1954, un equipo liderado por Joseph Murray en el Peter Bent Brigham Hospital, de Boston realizó el primer trasplante exitoso de riñón humano entre hermanos gemelos idénticos. En la actualidad se practican con frecuencia cada vez mayor trasplantes de riñón, páncreas, corazón, pulmón, hígado, médula ósea y córnea entre individuos no idénticos. La tasa de éxito también es cada vez mayor, al menos en cuanto a la supervivencia a corto plazo.

Diversos agentes inmunosupresores pueden contribuir a la supervivencia de los trasplantes, entre ellos fármacos y anticuerpos específicos desarrollados para disminuir el ataque inmunitario contra los injertos, pero en su mayor parte dichos agentes ejercen un efecto inmunosupresor global y su empleo a largo plazo tiene efectos secundarios dañinos para el receptor. Se desarrollan ahora nuevos métodos para inducir tolerancia específica a los injertos sin anular otras inmunorreacciones, y prometen supervivencias más prolongadas de los trasplantes sin que se trastorne la inmunidad del hospedador. En este capítulo se describen los mecanismos subyacentes al rechazo de los injertos y diversos procedimientos que se emplean para prolongar su supervivencia; además se presenta un resumen del estado actual del trasplante como instrumento clínico. En el enfoque clínico se examina el uso de órganos de especies no humanas (xenotrasplantes) a fin de resolver la escasez de órganos disponibles para quienes los necesitan.

Bases inmunitarias del rechazo de injertos

El grado de inmunorreacción a un injerto varía con el tipo de éste. Se utilizan los términos que siguen para referirse a los diferentes tipos de trasplantes:

- **Autoinjerto** es el tejido propio transferido desde un sitio del cuerpo hacia otro en el mismo individuo. Ejemplos de autoinjertos realizados son la transferencia de piel sana a una zona quemada de ésta y uso de vasos sanguíneos sanos para reemplazar arterias coronarias bloqueadas.
- **Isoinjerto** es el tejido transferido entre individuos idénticos desde el punto de vista genético. En cepas endogámicas de ratones se puede practicar un isoinjerto desde un ratón singénico hacia otro ratón de la misma clase. En el ser humano se puede llevar a cabo un isoinjerto entre gemelos genéticos idénticos (monocigotos).
- **Aloinjerto** es el tejido transferido entre miembros genéticos diferentes de la misma especie. En ratones el aloinjerto se efectúa mediante transferencia de un tejido o un órgano de una cepa a otra. En el ser humano, los injertos de órganos de un individuo a otro son aloinjertos, a menos que donante y receptor sean mellizos idénticos.
- **Xenoinjerto** es el tejido trasplantado entre especies diferentes (p. ej., injerto de un corazón de babuino a un ser humano). En virtud de la escasez considerable de órganos donados, hoy se considera con mucha seriedad la crianza de animales con el objetivo específico de que sirvan como donantes de órganos para personas.

Los autoinjertos y los isoinjertos suelen ser bien aceptados, gracias a la identidad genética entre el injerto y el hospedador (fig. 17-1a). Como el aloinjerto es diferente desde el punto de vista genético al hospedador, por lo general el sistema inmunitario lo reconoce como extraño y, por este motivo, lo rechaza. Desde luego, los xenoinjertos son los que plantean la disparidad genética más grande y, en consecuencia, suscitan una reacción intensa de rechazo.

El rechazo de aloinjertos manifiesta especificidad y memoria

La tasa de rechazo de los aloinjertos varía con el tejido en cuestión. En general, los injertos de piel se rechazan con más rapidez que otros, como los de riñón y corazón. A pesar de estas diferencias en el tiempo de rechazo, la inmunorreacción que culmina en el rechazo de un injerto expresa siempre los atributos de especificidad y memoria. Si un ratón endogámico de la cepa A recibe piel de uno de la cepa B, tiene lugar el rechazo primario del injerto, conocido como rechazo de primera intención (fig. 17-1b). La piel se revasculariza en primer lugar entre los días tercero y séptimo; conforme se desarrolla la reacción, el trasplante vascularizado se infiltra con linfocitos, monocitos, neutrófilos y otras células inflamatorias. Entre los días séptimo y décimo disminuye la vascularización del tejido trasplantado, en el décimo día es visible la necrosis y entre los días 12 y 14 sucede el rechazo total.

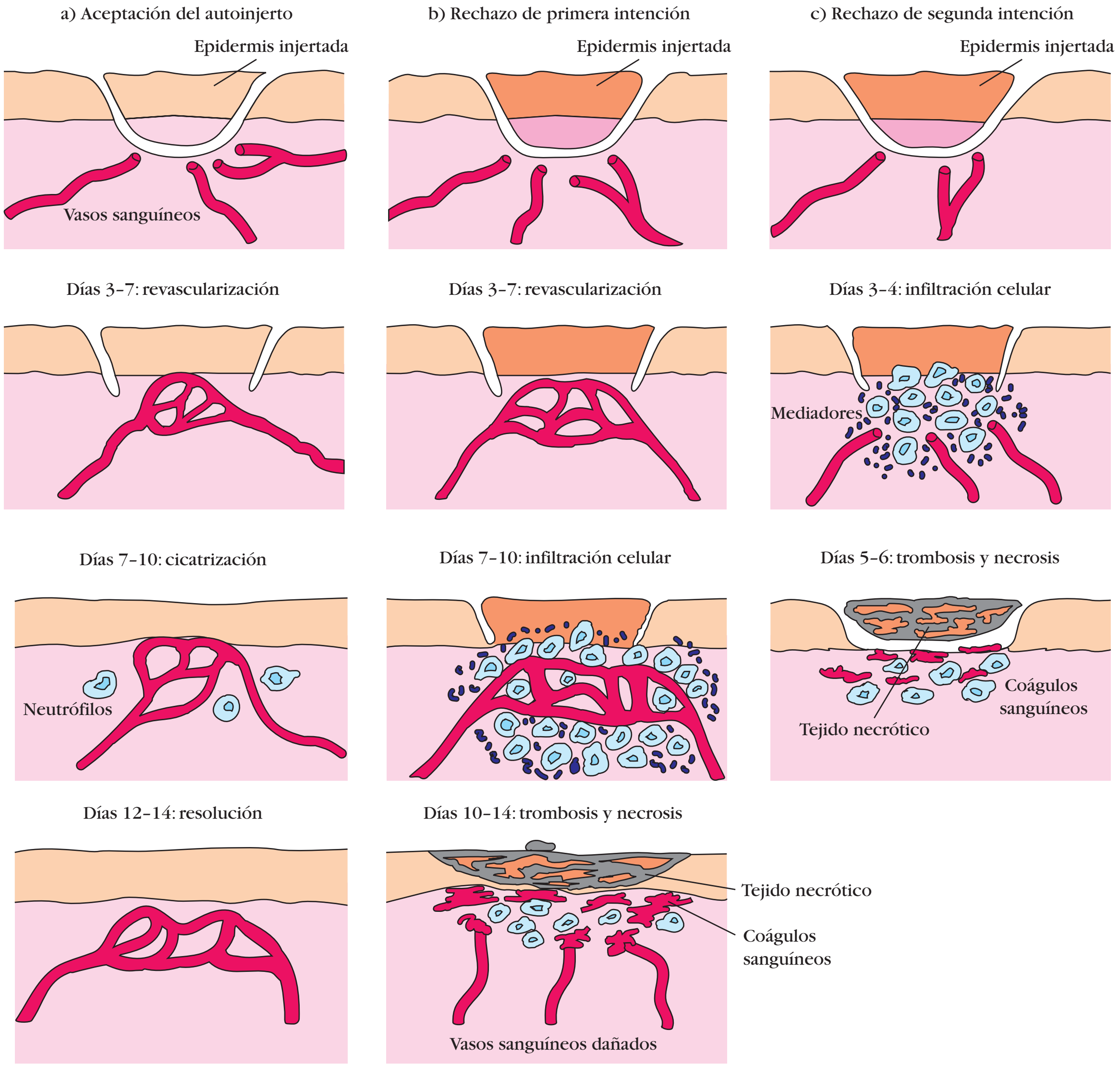
Se pone de manifiesto la memoria inmunitaria cuando se transfiere un segundo injerto de la cepa B a un ratón de la cepa A que recibió con anterioridad el primero. En este caso se desarrolla con más prontitud una reacción de rechazo del injerto y éste es completo en plazo de cinco a seis días; esta respuesta secundaria se conoce como rechazo de segunda intención (fig. 17-1c). La especificidad de un rechazo de segunda intención se puede demostrar al efectuar un injerto no relacionado de la cepa C al mismo tiempo que el segundo injerto de la cepa B. El rechazo del injerto de la cepa C procede de conformidad con la cinética del rechazo de primera intención, en tanto que el injerto de la cepa B se rechaza por segunda intención de manera acelerada.

Las células T desempeñan una función clave en el rechazo de los aloinjertos

Al principio del decenio de 1950, Avrion Mitchison demostró en experimentos de transferencia adoptiva que los linfocitos, no así el anticuerpo sérico, podían transferir inmunidad contra los aloinjertos. Estudios ulteriores incluyeron a las células T en el rechazo de éstos. Por ejemplo, se encontró que los ratones desnudos o lampiños, que carecen de timo y, en consecuencia, de células T funcionales, eran incapaces de rechazar los aloinjertos; en realidad, estos ratones aceptaban incluso los xenoinjertos. En otros estudios se demostró que las células T derivadas de un ratón cebado con un aloinjerto transferían el rechazo de los aloinjertos de segunda intención a un receptor singénico no cebado, siempre que el receptor recibiera un injerto del mismo tejido alogénico (fig. 17-2).

El análisis de las subpoblaciones de células T participantes en el rechazo de los aloinjertos ha señalado a poblaciones de células $CD4^+$ y $CD8^+$. En un estudio se inyectaron anticuerpos monoclonales a ratones con la finalidad de agotar sus células T de uno o ambos tipos, tras lo que se midió la rapidez del rechazo del injerto. Como se ilustra en la figura 17-3, la remoción de la población de células $CD8^+$ sólo careció de efecto sobre la supervivencia del injerto y éste se rechazó con la misma rapidez que en los ratones testigos (15 días). La remoción exclusiva de la población de células T $CD4^+$ prolongó la supervivencia del injerto desde 15 hasta 30 días. Sin embargo, la remoción de las células T $CD4^+$ y $CD8^+$ dio por resultado supervivencia prolongada de los aloinjertos (hasta 60 días). Esta investigación indicó que intervenían en el rechazo las células T $CD4^+$ y $CD8^+$ y que la colaboración de ambas subpoblaciones producía un rechazo más intenso del injerto. Estos datos son apoyados por un estudio reciente sobre la expresión génica de CD4 y CD8 en células T que infiltran aloinjertos renales en seres humanos. Un estudio sobre la expresión de RNA indica que se sobreexpresaron tanto CD4 como CD8 en células T presentes en casos de rechazos agudos y crónicos. Debido a la mayor concentración de IFN-γ pero no de IL-4 en las células T infiltrantes, éstas correspondieron al subconjunto T_H1.

FIGURA 17-1 PARA VISUALIZACIÓN DE CONCEPTOS: Esquemas del proceso de aceptación y rechazo de injertos


a) Aceptación del autoinjerto
b) Rechazo de primera intención
c) Rechazo de segunda intención
Epidermis injertada
Epidermis injertada
Epidermis injertada
Vasos sanguíneos
Días 3–7: revascularización
Días 3–7: revascularización
Días 3–4: infiltración celular
Mediadores
Días 7–10: cicatrización
Días 7–10: infiltración celular
Días 5–6: trombosis y necrosis
Neutrófilos
Coágulos sanguíneos
Tejido necrótico
Días 12–14: resolución
Días 10–14: trombosis y necrosis
Tejido necrótico
Coágulos sanguíneos
Vasos sanguíneos dañados

a) La aceptación de un autoinjerto es completa en 12 a 14 días. b) El rechazo de primera intención de un aloinjerto se inicia siete a 10 días después, con rechazo completo en plazo de 10 a 14 días. c) El rechazo de segunda intención de un aloinjerto se inicia dentro de los tres a cuatro primeros días, con rechazo completo en plazo de cinco a seis días. El infiltrado celular que invade al aloinjerto (b, c) contiene linfocitos, fagocitos y otras células inflamatorias.

El papel de las células dendríticas en el rechazo o la tolerancia de un aloinjerto es tema de creciente interés, debido a su capacidad inmunomoduladora y a que intervienen en la inducción de tolerancia. Como se expone en el capítulo 8, las células dendríticas pueden presentar antígenos exógenos en el contexto de moléculas MHC clase I a través del proceso de presentación cruzada, lo que da a las células T CD8$^+$ la oportunidad de reconocer aloantígenos como parte del proceso de rechazo. En estudios con ratones se ha demostrado que la inhibición de las células dendríticas puede contribuir a la aceptación de injertos, debido tal vez a que interfiere en la presentación de antígeno. Por otro lado, el pretratamiento con células dendríticas del donante puede promover la tolerancia, y se ha demostrado que prolonga la aceptación tanto de trasplantes de corazón como de páncreas en experimentos con ratones.

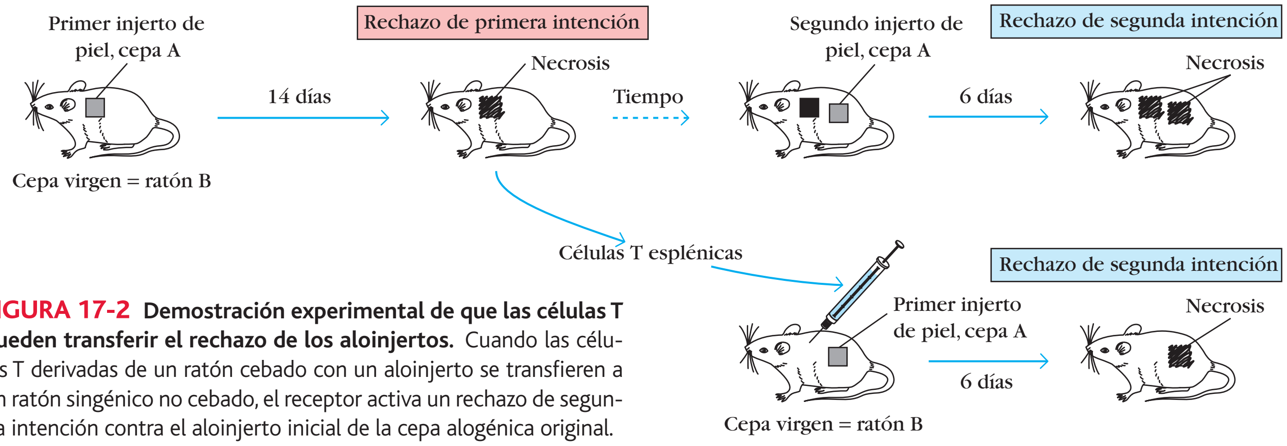

Primer injerto de piel, cepa A
Cepa virgen = ratón B
14 días
Rechazo de primera intención
Necrosis
Tiempo
Segundo injerto de piel, cepa A
6 días
Rechazo de segunda intención
Necrosis
Células T esplénicas
Primer injerto de piel, cepa A
Cepa virgen = ratón B
6 días
Rechazo de segunda intención
Necrosis

FIGURA 17-2 Demostración experimental de que las células T pueden transferir el rechazo de los aloinjertos. Cuando las células T derivadas de un ratón cebado con un aloinjerto se transfieren a un ratón singénico no cebado, el receptor activa un rechazo de segunda intención contra el aloinjerto inicial de la cepa alogénica original.

Los perfiles antigénicos similares propician la aceptación de los aloinjertos

Se dice que los tejidos que son similares desde el punto de vista antigénico son **histocompatibles**; estos tejidos no inducen una inmunorreacción que tiene como consecuencia rechazo del injerto. Los tejidos que manifiestan diferencias antigénicas de importancia son *histoincompatibles* y activan una inmunorreacción que culmina en el rechazo del tejido. Los diversos antígenos determinantes de la histocompatibilidad son codificados por más de 40 loci diferentes, pero los causantes de las reacciones de rechazo de aloinjerto más intensas se localizan en el **complejo mayor de histocompatibilidad (MHC)**. En el capítulo 8 se describió la organización del MHC, que se denomina complejo H-2 en el ratón y complejo HLA en el ser humano (fig. 8-1). Como los loci MHC están relacionados de modo estrecho, suelen heredarse como un grupo completo, que se llama **haplotipo**, de cada uno de los padres.

En una cepa endogámica de ratones, todos los animales son homocigotos en cada locus MHC. Cuando se aparean ratones de dos cepas endogámicas diferentes, por ejemplo de los haplotipos *b* y *k*, todos los descendientes F_1 heredan un haplotipo materno y uno paterno (fig. 8-2). Estos descendientes F_1 tienen el MHC tipo *b/k* y pueden aceptar injertos de cualquiera de los progenitores. Sin embargo, ninguna de las cepas de estos últimos puede aceptar injertos de los descendientes F_1 porque cada progenitor carece de uno de los haplotipos F_1. La herencia MHC en las poblaciones exogámicas es más compleja, ya que el grado elevado de polimorfismo expresado en cada locus MHC ofrece una probabilidad elevada de heterocigosidad en la mayoría de los loci. En los apareamientos entre miembros de una especie exogámica existe sólo una posibilidad de 25% de que cualesquiera dos descendientes hereden haplotipos MHC idénticos, a menos que los progenitores compartan uno o más haplotipos. Por este motivo, para los fines de injerto de órganos o de médula ósea cabe suponer que hay una posibilidad de 25% de identidad de los MHC entre hermanos. En el caso de los injertos de un progenitor a su hijo, donante y receptor tienen siempre un haplotipo en común pero son también casi siempre incompatibles en cuanto al haplotipo heredado del otro progenitor.

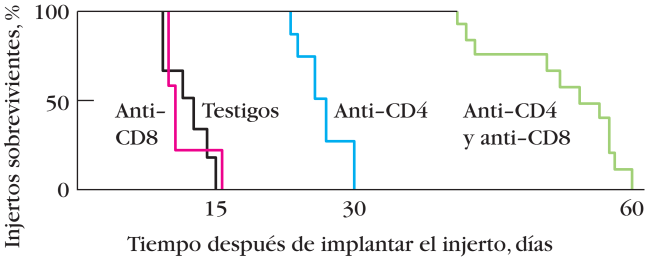


FIGURA 17-3 Se demuestra la participación de las células T $CD4^+$ y $CD8^+$ en el rechazo de los aloinjertos mediante las curvas que ilustran los tiempos de supervivencia de los injertos cutáneos entre los ratones con incompatibilidad de MHC. Los animales en los que se eliminaron las células T $CD8^+$ mediante tratamiento con un anticuerpo monoclonal anti-CD8 (línea roja) manifestaron poca diferencia respecto de los ratones testigos no tratados (línea negra). El tratamiento con anticuerpo monoclonal anti-CD4 (línea azul) mejoró la supervivencia del injerto en grado significativo, y el tratamiento con los anticuerpos anti-CD4 y anti-CD8 prolongó la supervivencia del injerto de la manera más impresionante (línea verde). *[Adaptada de S. P. Cobbold et al., 1986,* Nature ***323:****165.]*

Se determinan los antígenos eritrocíticos y los MHC de los donantes y los receptores de injertos

Como las diferencias en los grupos sanguíneos y los antígenos de histocompatibilidad mayor son las causas de las reacciones de rechazo de injertos más intensas, se han desarrollado diversos procedimientos de determinación del tipo tisular para identificar estos antígenos a fin de encontrar células donantes y receptoras potenciales. De manera inicial, se investigan el donante y el receptor para conocer su compatibilidad de grupo sanguíneo ABO. Los antígenos de grupo sanguíneo se expresan en la superficie de eritrocitos, células epiteliales y células endoteliales. Los anticuerpos producidos en el receptor contra cualesquiera de estos antígenos presentes en el tejido trasplantado inducen lisis de las células donadas incompatibles por el complemento mediada por anticuerpo.

La determinación del grupo HLA de los donantes potenciales y de un receptor dado puede hacerse mediante una prueba de microcitotoxicidad (fig. 17-4a, b). En esta prueba se distribuyen leucocitos de los donantes potenciales y el receptor en una serie de fosos de una placa de microtitulación, y entonces se añaden a

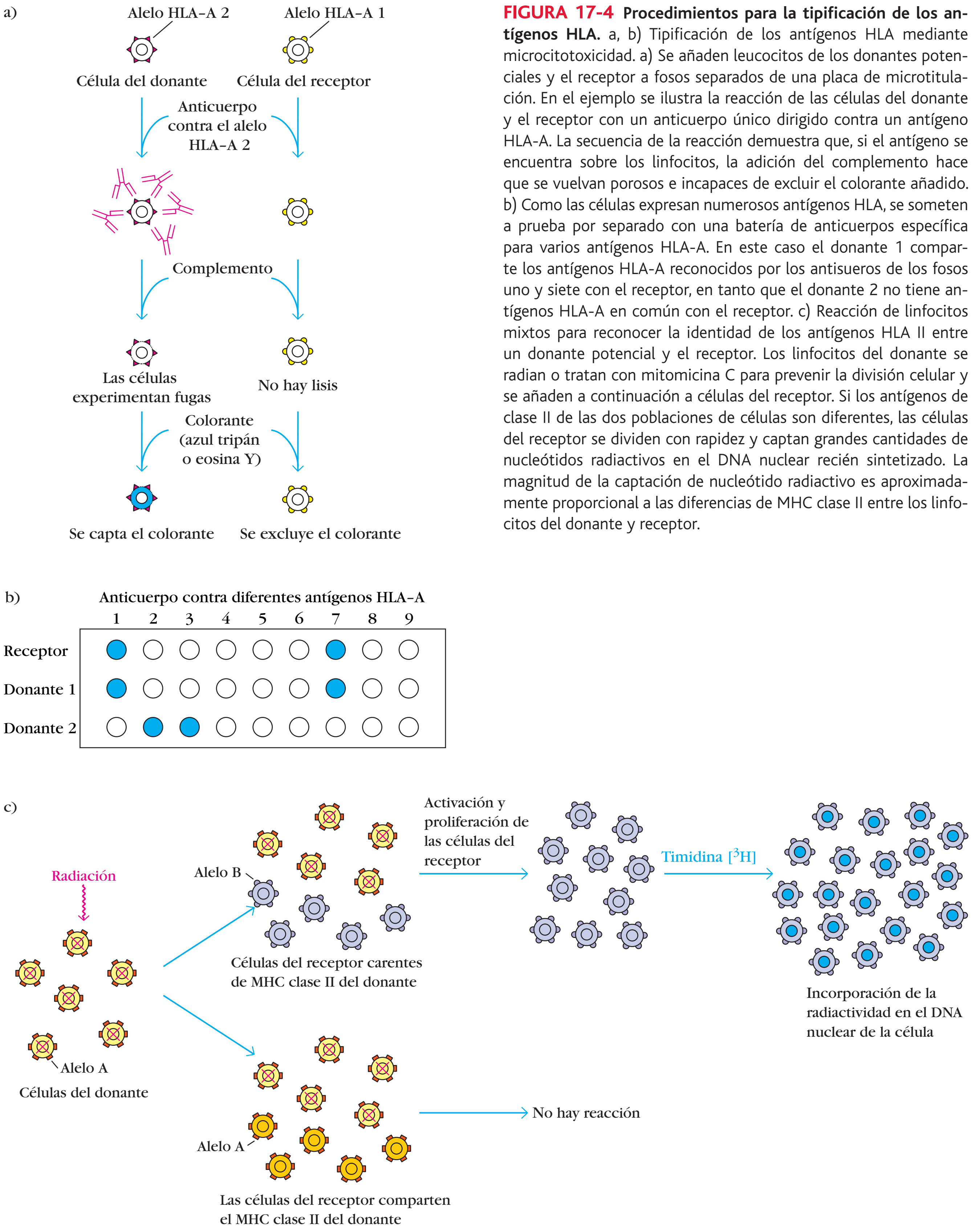


FIGURA 17-4 Procedimientos para la tipificación de los antígenos HLA. a, b) Tipificación de los antígenos HLA mediante microcitotoxicidad. a) Se añaden leucocitos de los donantes potenciales y el receptor a fosos separados de una placa de microtitulación. En el ejemplo se ilustra la reacción de las células del donante y el receptor con un anticuerpo único dirigido contra un antígeno HLA-A. La secuencia de la reacción demuestra que, si el antígeno se encuentra sobre los linfocitos, la adición del complemento hace que se vuelvan porosos e incapaces de excluir el colorante añadido. b) Como las células expresan numerosos antígenos HLA, se someten a prueba por separado con una batería de anticuerpos específica para varios antígenos HLA-A. En este caso el donante 1 comparte los antígenos HLA-A reconocidos por los antisueros de los fosos uno y siete con el receptor, en tanto que el donante 2 no tiene antígenos HLA-A en común con el receptor. c) Reacción de linfocitos mixtos para reconocer la identidad de los antígenos HLA II entre un donante potencial y el receptor. Los linfocitos del donante se radian o tratan con mitomicina C para prevenir la división celular y se añaden a continuación a células del receptor. Si los antígenos de clase II de las dos poblaciones de células son diferentes, las células del receptor se dividen con rapidez y captan grandes cantidades de nucleótidos radiactivos en el DNA nuclear recién sintetizado. La magnitud de la captación de nucleótido radiactivo es aproximadamente proporcional a las diferencias de MHC clase II entre los linfocitos del donante y receptor.

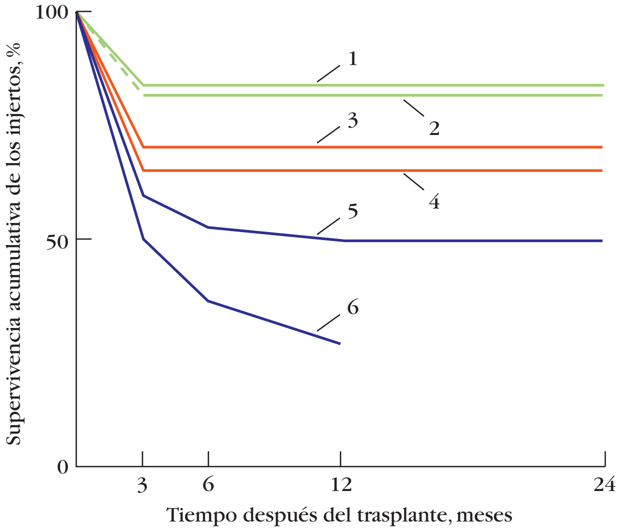
a)
Alelo HLA-A 2
Alelo HLA-A 1
Célula del donante
Célula del receptor
Anticuerpo contra el alelo HLA-A 2
Complemento
Las células experimentan fugas
No hay lisis
Colorante (azul tripán o eosina Y)
Se capta el colorante
Se excluye el colorante
b)
Anticuerpo contra diferentes antígenos HLA-A
c)
Radiación
Alelo A
Células del donante
Alelo B
Células del receptor carentes de MHC clase II del donante
Activación y proliferación de las células del receptor
Timidina [³H]
Incorporación de la radiactividad en el DNA nuclear de la célula
Alelo A
Las células del receptor comparten el MHC clase II del donante
No hay reacción

	1	2	3	4	5	6	7	8	9
Receptor	●	○	○	○	○	○	●	○	○
Donante 1	●	○	○	○	○	○	●	○	○
Donante 2	○	●	●	○	○	○	○	○	○

los diferentes fosos anticuerpos específicos para diversos alelos MHC clases I y II. Después de la incubación se añade complemento a los fosos y se valora la citotoxicidad según la captación o la exclusión de diversos colorantes (p. ej., azul tripán o eosina Y) por las células. Si los leucocitos expresan el alelo MHC para el que es específico un anticuerpo monoclonal, las células experimentan lisis cuando se añade complemento y estas células muertas captan un colorante como el azul tripán. La determinación del tipo HLA basada en la microcitotoxicidad mediada por anticuerpo puede indicar así la presencia o ausencia de diversos alelos MHC.

El trasplante puede tener buenos resultados incluso cuando no se dispone de un donante del todo compatible en cuanto al HLA. En esta situación, puede inducirse una reacción de linfocitos mixtos (MLR) de una vía para cuantificar el grado de compatibilidad de los MHC clase II entre los donantes potenciales y el receptor (fig. 17-4c). Los linfocitos de un donante potencial que se han tratado con radiación X o mitomicina C sirven como células estimuladoras, y los del receptor, como células reactivas. La proliferación de las células T receptoras, que indica que se han activado, se mide por la prueba de captación de timidina $[^3H]$ por el DNA celular. Cuanto más grandes sean las diferencias en el MHC clase II entre las células del donante y las del receptor, tanto más elevada será la captación de timidina $[^3H]$ observada en la prueba MLR. La proliferación intensa de los linfocitos del receptor indica mal pronóstico para la supervivencia del injerto. La ventaja de la prueba MLR sobre la determinación del grupo por microcitotoxicidad consiste en que es un mejor indicador del grado de activación de las células T_H generada como respuesta a los antígenos MHC clase II del injerto potencial. Una desventaja de la prueba MLR es que requiere varios días para su ejecución. Si el donante potencial es un cadáver, por ejemplo, no es posible esperar los resultados de esta clase de estudio, toda vez que el órgano debe emplearse con prontitud después de retirarlo del cadáver. En este caso el protocolo indicado para la tipificación tisular es la prueba de microcitotoxicidad, que se puede realizar en unas cuantas horas.

Se confirma la importancia de la compatibilidad MHC para la aceptación de los aloinjertos por los datos obtenidos de receptores de trasplante renal. Los datos de la figura 17-5 revelan que la supervivencia de los injertos renales depende, de manera primordial, de la compatibilidad entre donante y receptor de los antígenos HLA clase II. La compatibilidad o incompatibilidad de los antígenos clase I tiene un efecto menor sobre la supervivencia de los injertos, a menos que haya también incompatibilidad entre los antígenos de clase II. Se observa una tasa de supervivencia a dos años de 90% en los casos de trasplante renal en los que son incompatibles uno o dos de los loci HLA clase I, mientras que los riñones trasplantados con diferencias en los MHC clase II tienen una posibilidad de sólo 70% de durar dos años. Los que tienen números más elevados de desigualdades experimentan tasas de supervivencia mucho más bajas al año del trasplante. Como se describe más adelante, la compatibilidad HLA tiene la máxima importancia para los trasplantes de riñón y médula ósea; los trasplantes de hígado y corazón pueden sobrevivir con mayor incompatibilidad.



Curva núm.	Desigualdades de HLA (núm.) Clase I	Desigualdades de HLA (núm.) Clase II
1	0	0
2	1 o 2	0
3	3 o 4	0
4	0	1 o 2
5	1 o 2	1 o 2
6	3 o 4	1 o 2

FIGURA 17-5 Efecto de la compatibilidad entre los antígenos HLA de clases I y II sobre la supervivencia de los injertos de riñón. La desigualdad de uno o dos antígenos de clase I (HLA-A o HLA-B) tiene poco efecto sobre la supervivencia del injerto. Una sola diferencia de clase II (línea 4) tiene el mismo efecto que tres o cuatro diferencias de los antígenos de clase I (línea 3). Cuando son desiguales los antígenos de las clases I y II el rechazo es acelerado. *[Adaptada de T. Moen et al., 1980,* New England Journal of Medicine ***303****:850.]*

Los datos sobre el impacto de la compatibilidad de HLA son confirmados por un estudio reciente de receptores de trasplante renal en Europa. Los nuevos datos indican que las tasas de supervivencia a 36 meses aumentaron a casi 90% en la cohorte trasplantada entre 1996 y 2000, en comparación con el éxito de 50% en trasplantes realizados entre 1966 y 1970. El aumento se atribuye principalmente a mejores procedimientos de inmunosupresión. Dentro de los grupos sometidos a trasplante en fechas recientes, siguió habiendo claras ventajas en la donación de órganos entre grupos HLA con alta compatibilidad. Además de un aumento de 5 a 10% en la tasa de supervivencia de receptores compatibles, otra ventaja fue una menor incidencia de cáncer de piel y otros efectos adversos. Y lo que es muy importante, si el trasplante falla por alguna razón y se requiere de un segundo trasplante, los receptores de injertos de alta compatibilidad son favorecidos porque no tendrán anticuerpos preexistentes contra múltiples grupos HLA, lo cual podría obstaculizar la aceptación de un segundo injerto.

Los conocimientos actuales sobre los receptores tipo inmunoglobulina de célula asesina (KIR) en la célula NK (cap. 14) sugieren que la ausencia de un antígeno de clase I reconocido por ciertas moléculas KIR podría producir la muerte de la célula extraña. Se observó rechazo en trasplantes experimentales de médula ósea en los casos en que las células donantes carecían de la molécula clase I reconocida por el KIR del receptor del injerto. Los efectos de estas desigualdades de clase I sobre los injertos de órganos sólidos pueden ser menos intensos.

La identidad MHC del donante y el hospedador no es el único factor determinante de la aceptación tisular. Cuando se trasplantan tejidos entre individuos genéticamente distintos, incluso si son idénticos sus antígenos MHC, el tejido trasplantado puede resultar rechazado a causa de diferencias en diversos **loci de histocompatibilidad menor**. Como se describió en el capítulo 9, las células T_H y T_C reconocen los antígenos de histocompatibilidad mayor, fenómeno que se ha denominado *alorreactividad*. En contraste, se reconocen los antígenos de histocompatibilidad menor cuando se presentan en el contexto de las moléculas MHC propias. El rechazo tisular inducido por las diferencias de la histocompatibilidad menor suele ser menos intenso que el inducido cuando las diferencias de histocompatibilidad son más pronunciadas. Aun así, la reacción a estas diferencias tisulares menores tiene casi siempre como resultado rechazo del injerto. Por este motivo, el trasplante con buenos resultados incluso entre individuos con HLA idénticos requiere cierto grado de inmunosupresión.

El rechazo de injerto mediado por células se produce en dos etapas

El rechazo de injerto se debe sobre todo a una inmunorreacción mediada por células a los aloantígenos (de modo primordial moléculas MHC) expresados sobre las células del injerto. Se han referido en este suceso reacciones de hipersensibilidad tardía y citotoxicidad mediada por células. El proceso de rechazo del injerto se puede clasificar en dos etapas: a) una de sensibilización, en que los linfocitos del receptor reactivos al antígeno proliferan en reacción a los aloantígenos contenidos en el injerto, y b) una etapa efectora en la que ocurre la destrucción inmunitaria del injerto.

Etapa de sensibilización

Durante la etapa de sensibilización, las células T $CD4^+$y $CD8^+$ reconocen aloantígenos expresados en las células del injerto extraño y proliferan en reacción a éstos. Pueden reconocerse aloantígenos de histocompatibilidad mayor y menor. En general, la respuesta a los antígenos de histocompatibilidad menor es débil, aunque en ocasiones es muy intensa la reacción combinada a diversas diferencias menores. La reacción a los antígenos de histocompatibilidad mayor abarca reconocimiento de la molécula MHC del donante y de un ligando péptido relacionado en el surco de esta molécula. Los péptidos que se encuentran en el surco de las moléculas MHC clase I alogénicas se derivan de proteínas sintetizadas dentro de la célula alogénica. Los péptidos que se hallan en el surco de la molécula MHC clase II alogénica son casi siempre proteínas captadas y sometidas a procesamiento por la vía endocítica de la célula presentadora de antígeno alogénica.

Una célula T_H del hospedador se activa cuando interactúa con una célula presentadora de antígeno (APC) que expresa un complejo de ligando y molécula MHC antigénico apropiado, y ofrece la señal coestimuladora necesaria. Según sea el tejido, diferentes poblaciones de células de un injerto pueden funcionar como presentadoras de antígeno. Como en la mayor parte de los tejidos se encuentran células dendríticas, y dado que expresan de manera constitutiva concentraciones elevadas de moléculas MHC clase II, las células dendríticas funcionan las más de las veces como APC principales en los injertos. Las APC originadas en el hospedador pueden migrar también hacia el interior de un injerto y efectuar endocitosis de los aloantígenos extraños (moléculas de histocompatibilidad mayor y menor) y presentarlos como péptidos procesados en conjunto con moléculas MHC propias. Como ya se dijo, la propiedad de presentación cruzada por células dendríticas les permite presentar antígenos endocíticos en el contexto de moléculas MHC clase I a células $CD8^+$, que entonces pueden reaccionar al aloinjerto.

En algunos injertos de órganos y tejidos (p. ej., riñón, timo e islotes pancreáticos) se ha demostrado que una población de APC pasa desde el injerto hasta los ganglios linfáticos regionales. Estas APC son células dendríticas que expresan concentraciones elevadas de moléculas MHC clase II (en conjunto con concentraciones normales de moléculas MHC clase I) y se hallan muy diseminadas en los tejidos de los mamíferos, con la excepción principal del encéfalo. Como estas APC expresan los antígenos MHC alogénicos del injerto donado, se reconocen como extraños y, por este motivo, pueden estimular la activación inmunitaria de los linfocitos T en los ganglios linfáticos. En algunas situaciones experimentales se ha demostrado que estas APC del donante inducen tolerancia a sus antígenos de superficie por supresión de las poblaciones de células T tímicas con receptores específicos para ellas. Son consistentes con el concepto de que la exposición a las células donadas induce tolerancia los datos que indican que las transfusiones de sangre del donante antes del trasplante pueden ayudar a la aceptación del injerto. El concepto de que la tolerancia puede inducirse usando células del donante para crear un hospedador quimérico se ha estudiado en diversos modelos animales, pero por numerosas razones aún no se utiliza en el trasplante en seres humanos.

Las células dendríticas de donante que funcionan como APC no son las únicas células que participan en la estimulación inmunitaria. De hecho, al parecer no intervienen en el rechazo de injertos de piel. Otros tipos de células que se han señalado en la presentación de aloantígenos al sistema inmunitario son las células de Langerhans y las células endoteliales de los vasos sanguíneos. Ambos tipos expresan antígenos MHC clases I y II.

El reconocimiento de los aloantígenos expresados sobre las células de un injerto induce en el hospedador proliferación intensa de células T. Esta proliferación se puede demostrar in vitro en una reacción de linfocitos mixtos (fig. 17-4c). Tanto las células dendríticas como las células endoteliales vasculares de los injertos alogénicos inducen proliferación de las células T del individuo receptor. La célula proliferativa principal es la célula T $CD4^+$, que reconoce a los aloantígenos de clase II de forma directa o los péptidos aloantigénicos que las células presentadoras de antígeno exhiben. Esta población amplificada de células T_H parece desempeñar un papel central en la inducción de los diversos mecanismos efectores del rechazo de aloinjertos. Como se expone en el capítulo 9, un porcentaje relativamente alto de células T reaccionan a aloantígenos.

Etapa efectora

Son varios los mecanismos efectores que participan en el rechazo de aloinjertos (fig. 17-6). Los más frecuentes son las reacciones mediadas por células que se caracterizan por hipersensibilidad tardía y citotoxicidad mediada por linfocitos; mecanismos menos frecuentes son lisis de anticuerpo más complemento y destrucción por citotoxicidad mediada por células dependiente de

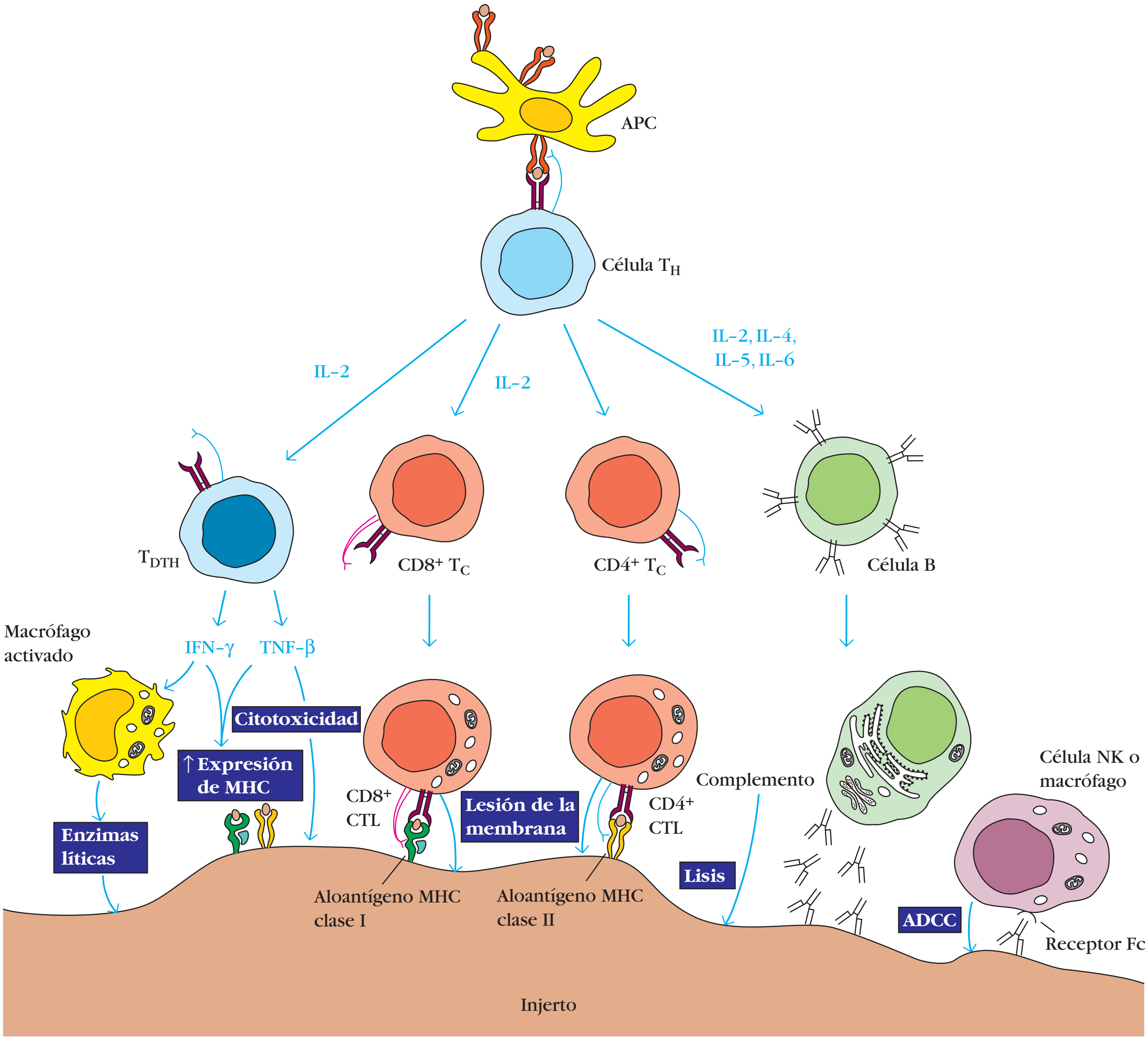

APC
Célula T_H
IL-2
IL-2
IL-2, IL-4,
IL-5, IL-6
T_{DTH}
CD8$^+$ T_C
CD4$^+$ T_C
Célula B
Macrófago
activado
IFN-γ
TNF-β
Citotoxicidad
↑ Expresión
de MHC
Enzimas
líticas
CD8$^+$
CTL
Lesión de la
membrana
CD4$^+$
CTL
Complemento
Célula NK o
macrófago
Lisis
ADCC
Receptor Fc
Aloantígeno MHC
clase I
Aloantígeno MHC
clase II
Injerto

FIGURA 17-6 **Mecanismos efectores (bloques de color púrpura) que participan en el rechazo del aloinjerto.** La generación o la actividad de diversas células efectoras depende, de manera directa o indirecta, de citocinas (de color azul) secretadas por células T_H activadas. ADCC, citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo.

anticuerpo (ADCC). La piedra angular del rechazo de injerto caracterizado por reacciones mediadas por células es la entrada de células T y macrófagos en el espesor del injerto. Desde el punto de vista histológico, en muchos casos la infiltración se parece a la observada durante una reacción de hipersensibilidad tardía (DTH), en que las citocinas producidas por células T promueven la infiltración por macrófagos (fig. 14-15). El reconocimiento por las células CD8$^+$ del hospedador de aloantígenos clase I ajenos en el injerto o de péptidos aloantigénicos presentados de manera cruzada en el contexto de MHC clase I por células dendríticas puede tener como resultado la muerte de las células del injerto mediada por CTL (fig. 9-16).

En cada uno de estos mecanismos efectores, las citocinas secretadas por células T_H tienen una función de primera importancia (fig. 17-6). Por ejemplo, se ha demostrado que IL-2, IFN-γ y TNF-β son mediadores importantes del rechazo de injerto. La IL-2 promueve la proliferación de las células T y suele ser necesaria para la generación de linfocitos citotóxicos efectores (fig. 14-1). El IFN-γ es de importancia central para el desarrollo de una reacción DTH y promueve la entrada de macrófagos en el injerto y la activación subsecuente de éstos para que se conviertan en células más destructivas. Se ha demostrado que el TNF-β tiene un efecto citotóxico directo sobre las células del injerto. Diversas citocinas promueven el rechazo de los injertos al inducir la expresión de moléculas MHC clase I o II en las células del injerto. Los interferones (α, β y γ), el TNF-α y el TNF-β incrementan la expresión de MHC clase I, y el IFN-γ aumenta también la expresión de MHC clase II. Durante una crisis de rechazo se incrementan las concentraciones de estas citocinas e inducen dentro del injerto la formación de diversos tipos de células para que expresen moléculas MHC clase I o II. En los aloinjertos cardíacos de rata, por ejemplo, las células dendríticas son, al principio, las únicas que expresan moléculas MHC clase II. Sin embargo, a medida que se inicia la reacción de aloinjerto, la producción localizada de IFN-γ en éste induce a células endoteliales y miocitos para que expresen también moléculas MHC clase II, lo que torna a estas células en blanco del ataque de los linfocitos T citotóxicos.

Una descripción completa del efecto de las citocinas en el aloinjerto debe incluir alguna mención de las que promueven la tolerancia del tejido extraño. Mientras que IL-12 e IL-15 son exclusivamente proinflamatorias, y contribuyen a algunas vías que llevan al rechazo del injerto, es posible que la IL-2 tenga un efecto pleiotrópico. Promueve el rechazo al apoyar la expansión de células T efectoras, pero también ceba células efectoras para su eliminación por apoptosis y contribuye a la proliferación de células T reguladoras. IL-10 y TGF-β promueven la tolerancia al mediar la actividad de T_{reg}.

Manifestaciones clínicas del rechazo de injertos

Las reacciones de rechazo de injerto evolucionan durante tiempos variables según el tipo de tejido o de órgano injertados y la inmunorreacción producida. Se observan reacciones de rechazo hiperagudo dentro de las primeras 24 h que siguen al trasplante; las reacciones de rechazo agudo suelen iniciarse durante las primeras semanas que siguen al trasplante, y las de rechazo crónico pueden ocurrir entre meses y años después de éste.

Los anticuerpos preexistentes en el receptor median el rechazo hiperagudo

En casos raros se rechaza un trasplante con tanta rapidez que el tejido injertado no se vasculariza en lo absoluto. Estas reacciones hiperagudas se deben a anticuerpos séricos preexistentes en el suero del hospedador que son específicos para los antígenos del injerto. Los complejos de antígeno y anticuerpo que se forman activan el sistema de complemento y producen, como consecuencia, infiltración intensa de neutrófilos en el tejido injertado. La reacción inflamatoria ulterior produce formación masiva de coágulos dentro de los capilares que impiden la vascularización del injerto (fig. 17-7).

Son diversos los mecanismos que explican la presencia de anticuerpos preexistentes específicos de los antígenos MHC alogénicos. Los receptores de transfusiones repetidas de sangre desarrollan en ocasiones concentraciones notables de anticuerpos contra los antígenos MHC que se expresan en los leucocitos contenidos en la sangre transfundida. Si algunos de estos antígenos MHC son los mismos que los contenidos en un injerto ulterior, los anticuerpos reaccionan con éste e inducen una

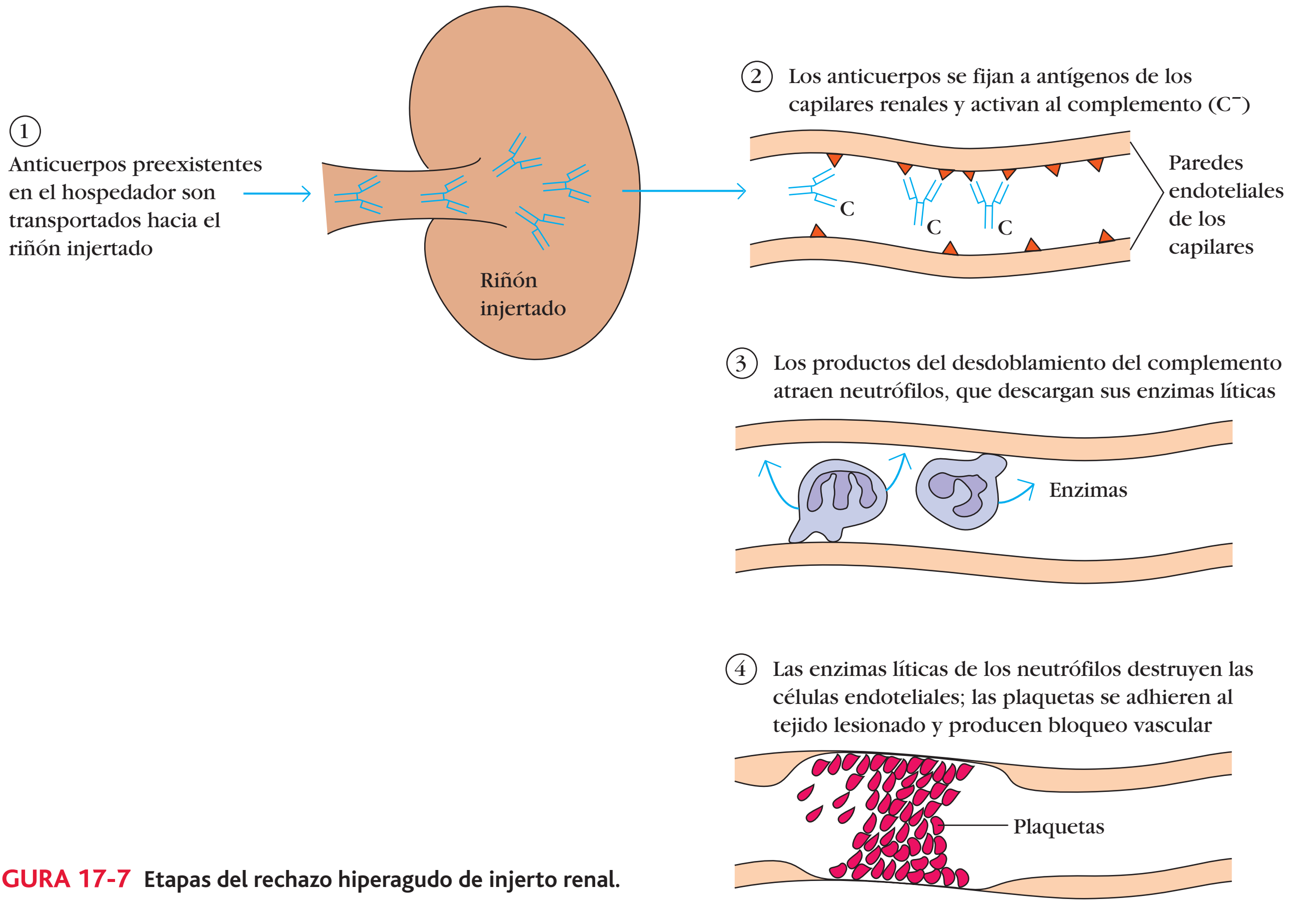

①
Anticuerpos preexistentes en el hospedador son transportados hacia el riñón injertado
Riñón injertado
②
Los anticuerpos se fijan a antígenos de los capilares renales y activan al complemento (C⁻)
C
C
C
Paredes endoteliales de los capilares
③
Los productos del desdoblamiento del complemento atraen neutrófilos, que descargan sus enzimas líticas
Enzimas
④
Las enzimas líticas de los neutrófilos destruyen las células endoteliales; las plaquetas se adhieren al tejido lesionado y producen bloqueo vascular
Plaquetas

FIGURA 17-7 **Etapas del rechazo hiperagudo de injerto renal.**

reacción de rechazo hiperagudo. Con los embarazos repetidos, las mujeres se exponen a los aloantígenos paternos del feto y pueden desarrollar anticuerpos contra ellos. Por último, las personas que han recibido un injerto previo tienen algunas veces concentraciones elevadas de anticuerpos contra los antígenos MHC alogénicos de dicho injerto.

En algunos casos, los anticuerpos preexistentes que participan en el rechazo hiperagudo de injerto pueden ser específicos de los antígenos de grupo sanguíneo contenidos en éste. Si se efectúa determinación del tipo tisular y del grupo sanguíneo ABO antes del trasplante, pueden identificarse estos anticuerpos preexistentes y evitarse los injertos que dan por resultado rechazo hiperagudo. A menudo se rechazan los xenotrasplantes de manera hiperaguda a causa de los anticuerpos contra los antígenos celulares de la especie del donante que no se hallan en la especie del receptor. Se habla de un antígeno de esta clase en el enfoque clínico de este capítulo.

Además del rechazo hiperagudo mediado por los anticuerpos preexistentes, existe una forma menos frecuente de rechazo que se conoce como *rechazo acelerado*, que se debe a los anticuerpos que se producen inmediatamente después del trasplante.

Reacciones de células T median el rechazo agudo

El rechazo de aloinjerto mediado por células se manifiesta como rechazo del injerto que se inicia unos 10 días después del trasplante (fig. 17-1b). El examen histopatológico revela infiltración masiva de macrófagos y linfocitos en el sitio de destrucción tisular, lo que sugiere activación y proliferación de células T_H. El rechazo agudo de injerto se produce por los mecanismos descritos con anterioridad (fig. 17-6).

El rechazo crónico ocurre meses o años después del trasplante

Las reacciones crónicas de rechazo se desarrollan meses o años después de las reacciones de rechazo agudo. Los mecanismos del rechazo crónico son de los tipos de reacción humoral y mediada por células del receptor. Aunque el empleo de fármacos inmunosupresores y el uso de métodos de tipificación tisular para obtener compatibilidad óptima entre donante y receptor han incrementado muchísimo la supervivencia de los aloinjertos durante los primeros años después del prendimiento, son pocos los progresos logrados en la supervivencia a largo plazo. El uso de fármacos inmunosupresores, que se describen a continuación, aumenta en grado notable la supervivencia del trasplante a corto plazo, pero en la mayor parte de los casos no es posible prevenir el rechazo crónico. Los datos sobre el rechazo de trasplantes renales desde 1975 indican un incremento desde 40 hasta casi 90% en la supervivencia de estos injertos al año. Sin embargo, durante el mismo período la supervivencia a largo plazo se ha incrementado sólo de forma discreta; como en 1975, alrededor de 50% de los riñones trasplantados funciona todavía a los 10 años. Las reacciones de rechazo crónico son difíciles de tratar con fármacos inmunosupresores y pueden requerir otro trasplante.

Tratamiento inmunosupresor general

El trasplante alogénico requiere cierto grado de inmunosupresión si se pretende que sobreviva el injerto. La mayor parte de los tratamientos inmunosupresores que se han desarrollado tienen la desventaja de ser inespecíficos; esto es, tienen como resultado inmunosupresión generalizada de las reacciones a todos los antígenos, no sólo a los del aloinjerto, lo que pone al receptor en mayor peligro de infección y cánceres linfoides. Además, muchas medidas inmunosupresoras tienen como finalidad desacelerar la proliferación de linfocitos activados. Este tratamiento afecta a cualesquiera células no inmunitarias que se multipliquen con rapidez (p. ej., células epiteliales del intestino o células madre hematopoyéticas de la médula ósea), lo que causa complicaciones graves o incluso amenazadoras para la vida. Los pacientes sometidos a tratamiento inmunosupresor prolongado están en mayor peligro de sufrir cáncer, hipertensión y enfermedad ósea metabólica.

Los inhibidores de la mitosis impiden la proliferación de las células T

En 1959, Robert Schwartz y William Dameshek informaron que el tratamiento con 6-mercaptopurina suprimía las inmunoreacciones en modelos animales. Joseph Murray y colaboradores evaluaron después varios análogos químicos de esa sustancia para su uso en trasplantes en seres humanos y encontraron uno, la azatioprina, que cuando se usaba en combinación con corticosteroides incrementaba la supervivencia de aloinjertos de manera impresionante. Murray recibió un premio Nobel en 1991 por este avance clínico, y quienes produjeron el fármaco, Gertrude Elion y George Hitchings, recibieron esa presea en 1987.

A menudo se administra azatioprina, que es un inhibidor potente de la mitosis, inmediatamente antes y después del trasplante para disminuir la proliferación de células T como reacción a los aloantígenos del injerto. La azatioprina actúa sobre las células durante la fase S de su ciclo al bloquear la síntesis de ácido inosínico, que es un precursor de las purinas ácido adenílico y ácido guanílico. En presencia de este fármaco disminuye la proliferación de células B y T. Las pruebas de la inmunidad funcional, como la reacción de linfocitos mixtos (MLR), la prueba de linfocitotoxicidad mediada por células (CML) y la cutánea, ponen de manifiesto una disminución considerable después del tratamiento con azatioprina, lo que indica un decremento global de las cifras de células T.

Otros inhibidores de la mitosis que se administran en ocasiones en conjunto con otros agentes inmunosupresores son ciclofosfamida, micofenolato y metotrexato. La ciclofosfamida es un agente alquilante que se inserta en la hélice del DNA y forma enlaces cruzados, rompiéndola. Es eficaz en especial contra las células que se multiplican con rapidez y, por este motivo, se administra algunas veces en el momento del injerto para bloquear la proliferación de las células T. El micofenolato se obtiene del moho penicilium y bloquea la síntesis de purinas. El metotrexato actúa como antagonista del ácido fólico al bloquear la síntesis de las purinas. El hecho de que los inhibidores de la mitosis actúen

ENFOQUE CLÍNICO

¿Tienen futuro clínico los xenotrasplantes?

A menos que aumenten de manera drástica las donaciones de órganos, la mayoría de los 91 700 pacientes de Estados Unidos que en abril de 2006 estaban en la lista de espera para recibir un trasplante no lo recibirán. En su mayor parte necesitan un riñón, pero en 2005 sólo se trasplantaron 16 477 riñones. Una solución a esta escasez podría ser el empleo de órganos de animales. Algunos investigadores afirman que los xenoinjertos representan el riesgo de introducir retrovirus patógenos en la población humana; otros lo objetan basados en aspectos éticos relacionados con los derechos de los animales. A pesar de lo anterior, se encuentra bajo consideración seria el empleo de cerdos a fin de proveer órganos para los seres humanos. Los cerdos se crían con rapidez, tienen grandes camadas, pueden desarrollarse en ambientes libres de agentes patógenos y comparten semejanzas anatómicas y fisiológicas con el ser humano. De hecho, los cerdos han servido como donantes de válvulas cardíacas para el ser humano desde hace muchos años. Los simios están más estrechamente relacionados con el ser humano (ambos son primates), pero la disponibilidad de grandes primates como donantes es en extremo limitada y no dejará de serlo.

Junto a las ventajas de los cerdos como donantes existen grandes dificultades. Por ejemplo, si se implantara un riñón de cerdo a una persona por las técnicas ordinarias empleadas en el trasplante humano, tal vez fracasaría de manera rápida e impresionante a causa del rechazo hiperagudo. El rechazo mediado por anticuerpo se debe a la presencia, en las células del cerdo (y en las de casi todos los demás mamíferos distintos del ser humano y de los otros primates superiores) de un antígeno disacárido (galactosil-1,3-α-galactosa) que no se encuentra en las células humanas. La presencia de este antígeno en muchos microorganismos significa que casi todo el mundo se ha expuesto a éste y ha formado anticuerpos para rechazarlo. Los anticuerpos preexistentes reaccionan con las células de cerdo, a las que a continuación destruye el complemento con rapidez por lisis. La ausencia de reguladores humanos de la actividad del complemento sobre las células del cerdo, entre ellos el factor humano acelerador de la degradación (DAF) y el cofactor proteínico de membrana humano (MCP), intensifica el ciclo de lisis por el complemento. (Véanse en el capítulo 7 las descripciones de DAF y MCP.)

¿Cómo puede superarse este gran obstáculo? Se investigan medidas para absorber los anticuerpos de la circulación sobre soportes sólidos y el empleo de disacáridos gal-gal solubles para bloquear las reacciones de anticuerpo. Una solución más elegante consiste en manipular a los cerdos mediante técnicas de ingeniería genética a fin de eliminar al gen para la enzima que sintetiza a la galactosil-1, 3-α-galactosa. Estos cerdos GalT-KO se han usado como donantes de corazón y riñón para babuinos en sistemas experimentales. K. Kuwaki y colaboradores trasplantaron corazones de cerdos GalT-KO a babuinos inmunosuprimidos con globulina antitimocito y un anticuerpo monoclonal anti-CD154, a los que luego mantuvieron con fármacos de uso común. Lograron un tiempo promedio de supervivencia de 92 días, y un trasplante cardíaco sobrevivió por 179 días en un babuino. K. Yamada y colaboradores demostraron el funcionamiento renal en receptores de riñones de cerdos GalT-KO hasta por 83 días. En este estudio se usó un régimen con trasplante simultáneo de timo en un intento de establecer tolerancia en los babuinos receptores. Aunque estos resultados no son concluyentes, la disponibilidad de órganos y los resultados promisorios de los experimentos encaminados a establecer un régimen óptimo antes del uso en seres humanos son bastante alentadores para la realización de xenotrasplantes en un ambiente clínico.

Quizá anular la reacción de rechazo inmediato mediante interferencia con la reacción específica contra este antígeno no prevenga en su totalidad el rechazo mediado por anticuerpo. Desde luego, se encontrarán otras diferencias antigénicas contra las que el receptor humano posee anticuerpos en algunas, si no es que en todas, las parejas de donante y receptor. Sin embargo, puede embotarse cualquier ataque contra las células del cerdo si se encuentra DAF (CD55) humano sobre la célula blanco para aminorar la reacción de complemento. La falta de DAF humano se remedia al producir cerdos transgénicos que expresan esta proteína. La adición de reguladores humanos del complemento al cerdo representa una solución más universal, ya que confiere resistencia a células del donante que podrían convertirse en blanco de lisis por el complemento humano.

Aun si se resuelven todos los aspectos de la diferencia antigénica, queda una preocupación adicional. La introducción de retrovirus endógenos del cerdo en el ser humano como resultado del xenotrasplante podría provocar enfermedad en el receptor. Quienes se oponen a los xenotrasplantes enarbolan el espectro de otra epidemia del tipo de la producida por el VIH resultante de la infección humana por un nuevo retrovirus de animales. Hace poco una empresa de Boston anunció el desarrollo de cerdos libres de retrovirus endógenos que reducen la posibilidad de este resultado sombrío.

¿Veremos el uso de riñones de cerdo para el trasplante en el futuro cercano? La demanda creciente de órganos ha impulsado el desarrollo de colonias de cerdos adecuados para convertirse en donantes de órganos. Aunque los riñones son los órganos que más se solicitan en la actualidad, encontrarán aplicación otros órganos y células de animales criados y manipulados por técnicas de ingeniería genética si se demuestra su seguridad y su eficacia. Una declaración de la American Society of Transplantation y la American Society of Transplant Surgeons publicada en 2000 brinda apoyo al empleo de xenoinjertos en tanto se satisfagan ciertas condiciones. Entre ellas están la demostración de la factibilidad en un modelo primate no humano, el beneficio comprobado para el paciente y el riesgo nulo de transmisión de una enfermedad infecciosa. Persisten las barreras al uso clínico de los xenotrasplantes, pero se realizan en la actualidad enormes esfuerzos para superarlos.

sobre las células que se reproducen con rapidez, y no de manera específica sobre las que participan en la inmunorreacción contra el aloinjerto, puede ocasionar reacciones secundarias dañinas al obstaculizar la división de otras células funcionales del cuerpo. Avances más recientes con la ciclosporina e inhibidores afines de procesos metabólicos celulares llevaron a sustituir la azatioprina como fármaco de primera línea para trasplantes.

Los corticosteroides suprimen la inflamación

Como se describe en el capítulo 16, los corticosteroides como la prednisona y la dexametasona son antiinflamatorios potentes que ejercen sus efectos en muchos niveles de la inmunorreacción. Estos fármacos se administran con frecuencia a los receptores de trasplantes en conjunto con un inhibidor de la mitosis, como la azatioprina, para prevenir las crisis agudas de rechazo del injerto.

Algunos metabolitos micóticos son inmunosupresores

Una inmunosupresión más específica se hizo posible con el uso de ciclosporina A (CsA), FK506 (tacrolimo) y rapamicina (sirolimo), que son metabolitos micóticos con propiedades inmunosupresoras. Aunque no guardan relación química entre sí, CsA y FK-506 tienen acciones semejantes. Ambos fármacos bloquean la activación de las células T en reposo al inhibir la transcripción de genes que codifican la IL-2 y el receptor de IL-2 de alta afinidad (IL-2Rα), que son esenciales para la activación. CsA y FK-506 ejercen este efecto al fijarse a proteínas citoplásmicas denominadas inmunofilinas, lo que forma un complejo que bloquea la actividad de fosfatasa de la calcineurina. Esto impide la formación y la transposición nuclear de la subunidad citoplásmica NFATc y su ensamblaje ulterior en NFAT, proteína de unión a DNA necesaria para la transcripción de los genes que codifican algunas moléculas importantes para la activación de las células T (fig. 10-12). La rapamicina es similar desde el punto de vista estructural al FK-506 y también se fija a una inmunofilina. Sin embargo, el complejo de rapamicina e inmunofilina no inhibe la actividad de la calcineurina; más bien bloquea la proliferación y diferenciación de las células T_H activadas en la fase G_1 del ciclo celular. Los tres fármacos, al suprimir la proliferación de las células T_H y por tanto la expresión de citocinas en ellas, reducen la activación posterior de diversas poblaciones efectoras participantes en el rechazo de injertos, entre ellas las de células T_H, T_C, NK y B y macrófagos.

Las propiedades inmunosupresoras potentes de estos tres fármacos los han convertido en las piedras angulares de los trasplantes de corazón, hígado, médula ósea y riñón. Se ha demostrado que la ciclosporina A prolonga la supervivencia de los injertos de riñón, hígado, corazón y el cardiopulmonar. En un estudio de 209 trasplantes de riñón de cadáveres donantes, la tasa de supervivencia a un año fue de 64% entre los receptores a los que se administraron otros tratamientos inmunosupresores y de 80% entre los que recibieron ciclosporina A. Se han obtenido resultados similares con los trasplantes de hígado (fig. 17-8). A pesar de estos resultados impresionantes, la CsA tiene algunos efectos adversos, el más notable de ellos la toxicidad renal. Es bastante frecuente la nefrotoxicidad aguda, que en algunos casos avanza hasta nefrotoxicidad crónica e insuficiencia renal producida por el fármaco. Los fármacos FK-506 y rapamicina son 10 a 100 veces más potentes como inmunosupresores que la CsA y por esa razón se pueden administrar a dosis más bajas y con menos efectos adversos que los de la CsA.

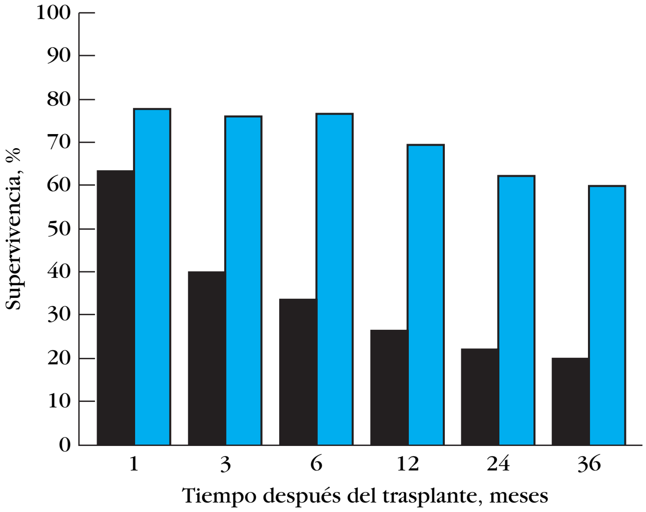


FIGURA 17-8 Comparación de la tasa de supervivencia de los trasplantes hepáticos en 84 pacientes sometidos a inmunosupresión con azatioprina y corticosteroides (barras negras) con la tasa de supervivencia de 55 sujetos sometidos a inmunosupresión con ciclosporina A y corticosteroides (barras azules). *[Adaptada de S. M. Sabesin y J. W. Williams, 1987* Hospital Practice ***15****(July):75.]*

La radiación linfoide total elimina los linfocitos

Como los linfocitos son en extremo sensibles a los rayos X, puede emplearse esa radiación para eliminarlos en el receptor de trasplante inmediatamente antes de que reciba el injerto. En la radiación linfoide total, se somete al receptor a exposiciones múltiples a radiación X de timo, bazo y ganglios linfáticos antes de la cirugía de trasplante. El protocolo típico consiste en tratamientos con 200 rad de rayos X al día durante varias semanas hasta un total de 3 400 rad. El injerto se realiza en tal estado de inmunosupresión. Como no se radia la médula ósea, proliferan en ella las células linfoides progenitoras y renuevan la población de linfocitos recirculantes. Estos linfocitos recién formados parecen ser más tolerantes a los antígenos del injerto.

Tratamiento inmunosupresor específico

Además de los efectos adversos peculiares de los diversos tratamientos inmunosupresores descritos, una limitación mayor común a todos ellos es la carencia de especificidad, por lo que producen una inmunosupresión más o menos generalizada y el riesgo del receptor de sufrir infecciones se incrementa. Lo ideal sería un agente inmunosupresor específico de antígeno que reduzca la inmunorreacción a los aloantígenos del injerto y que a la vez preserve la capacidad del receptor de reaccionar a otros antígenos extraños. Aunque no se ha alcanzado esta meta en los trasplantes humanos, resultados positivos obtenidos en fecha reciente en experimentos con animales indican que es posible lograrlo. Se ha conseguido la inmunosupresión específica a los aloinjertos en experimentos con animales mediante anticuerpos o ligandos solubles reactivos con las moléculas de la superficie celular.

Los anticuerpos pueden suprimir las reacciones de rechazo de injerto

El uso de anticuerpos dirigidos contra diversas moléculas de superficie de las células del sistema inmunitario puede suprimir la actividad de las células T en general, o bien es posible dirigir los anticuerpos contra la actividad de subpoblaciones de células específicas. Los resultados de estudios efectuados con modelos animales sugieren, además, que pueden emplearse ciertos anticuerpos monoclonales para suprimir sólo las células T que se han activado. Los buenos resultados logrados con modelos animales y en estudios clínicos con seres humanos dan razones para creer que encontrarán aplicación clínica dos tipos de conductas en las que se emplean anticuerpos para suprimir el rechazo. Pueden utilizarse anticuerpos para agotar en el receptor ciertas poblaciones globales o específicas de células; de manera alternativa, pueden usarse para bloquear las señales coestimuladoras. En este último caso se induce un estado de anergia en las células T que reaccionan a los antígenos contenidos en el aloinjerto.

La globulina antitimocito producida en animales se ha usado para agotar las células T en receptores de injerto antes del trasplante. Otra estrategia para eliminar células inmunitarias consiste en emplear un anticuerpo monoclonal contra la molécula CD3 del complejo de receptores de la célula T. La inyección de estos anticuerpos monoclonales tiene como resultado un rápido agotamiento de las células T maduras de la circulación. Este agotamiento parece deberse a fijación de las células T cubiertas por anticuerpo a receptores Fc de las células fagocíticas, que luego fagocitan y eliminan las células T de la circulación. En una variante mejorada de esta estrategia, se acopla con el anticuerpo un agente citotóxico como la toxina de la difteria. La célula con la que el anticuerpo reacciona internaliza la toxina, lo cual la mata. Otra medida de agotamiento practicada para incrementar la supervivencia de los injertos recurre a anticuerpos monoclonales específicos para el receptor de IL-2 de alta afinidad (CD25; el anticuerpo monoclonal es anti-CD25). Como el receptor de IL-2 de alta afinidad se expresa sólo en células T activadas, la exposición a los anti-CD25 después del injerto bloquea de manera específica la proliferación de las células T activadas en respuesta a los aloantígenos del injerto. En estudios más recientes se ha usado un anticuerpo monoclonal dirigido contra CD20 para agotar las células B maduras, con lo que se suprimen las reacciones de rechazo mediadas por anticuerpos.

El tratamiento con anticuerpo monoclonal, que se usó al principio para agotar las células T en los receptores de injertos, se ha instituido también para tratar a los donantes de médula ósea antes de efectuar el trasplante de ésta. Esta terapéutica se diseñó para agotar las células T inmunocompetentes en el trasplante de médula ósea; éstas son células que reaccionan con los tejidos del receptor y producen enfermedad de injerto contra hospedador (descrita más adelante). Los anticuerpos monoclonales con isotipos que activan el sistema del complemento constituyen la medida más eficaz de todas para el agotamiento de células.

El receptor de CD3 y el receptor de IL-2 de alta afinidad son blancos que se hallan en todas las células T activadas. También pueden usarse como blancos del tratamiento inmunosupresor moléculas que se encuentran en subpoblaciones particulares de células T. Se ha demostrado, por ejemplo, que un anticuerpo monoclonal contra el receptor de CD4 prolonga la supervivencia de los injertos. En un estudio se administró a monos una sola dosis grande de un anticuerpo anti-CD4 inmediatamente antes de que recibieran un trasplante de riñón. La supervivencia del injerto en los animales tratados se incrementó en grado notable respecto a la observada en los animales testigos no tratados. Resulta interesante el hecho de que el anticuerpo anti-CD4 no redujo el recuento de células T CD4^{+}, sino que más bien pareció inducir a estas células para que entraran en un estado de inmunosupresión. Éste es un ejemplo de un anticuerpo no agotador de células.

Otros blancos del tratamiento con anticuerpos monoclonales son las moléculas de adhesión de la superficie celular. La terapéutica simultánea con anticuerpos monoclonales contra las moléculas de adhesión ICAM-1 y LFA-1 durante seis días después del trasplante ha permitido la supervivencia indefinida de los injertos de corazón entre ratones alogénicos. Sin embargo, cuando se administró cualesquiera de estos anticuerpos monoclonales por sí solo, el animal receptor rechazó el trasplante cardíaco. La necesidad de suministrar ambos anticuerpos monoclonales al mismo tiempo refleja, tal vez, redundancia de las moléculas de adhesión: se sabe que LFA-1 se fija a ICAM-2 tanto como a ICAM-1; en contraste, se sabe que ICAM-1 se fija a Mac-1 (CD11b/CD18) y CD43 y también a LFA-1. Sólo cuando se bloquean de manera simultánea todos los posibles pareamientos entre estas adhesinas quedan bloqueadas la adhesión y la transducción de señales a través de ellas.

Una dificultad práctica cuando se utilizan anticuerpos monoclonales para prolongar la supervivencia de los injertos en seres humanos consiste en que casi siempre son de origen animal. Los primeros receptores de anticuerpos monoclonales murinos con frecuencia desarrollaban una reacción de anticuerpo contra el anticuerpo murino, que lo eliminaba con prontitud del organismo. Esta limitación se ha superado con la manufactura de anticuerpos monoclonales humanos y anticuerpos quiméricos murinos y humanos (fig. 5-24 y enfoque clínico del capítulo 5).

Como las citocinas parecen desempeñar una función de importancia en el rechazo de los aloinjertos, otra medida para prolongar la supervivencia de éstos supone inyectar a los animales receptores anticuerpos monoclonales específicos para las citocinas participantes, en particular TNF-α, IFN-γ e IL-2. Se ha demostrado que los anticuerpos monoclonales contra el TNF-α prolongan la duración de los trasplantes de médula ósea en ratones y reducen en ellos la incidencia de enfermedad de injerto contra hospedador. Se ha informado que los anticuerpos monoclonales contra IFN-γ e IL-2 prolongan en algunos casos la supervivencia de los trasplantes cardíacos en la rata.

Actualmente se consideran varios nuevos enfoques para prevenir las reacciones de rechazo. Un informe reciente de un consorcio de investigadores de Pfizer, Stanford y los National Institutes of Health reveló que un inhibidor de la cinasa Janus 3 (JAK3) promueve la aceptación de injertos renales en monos. Este inhibidor de JAK3, designado CP-690550, puede administrarse por vía oral y a la fecha no ha tenido ninguno de los efectos nocivos vinculados con los inmunosupresores de uso común.

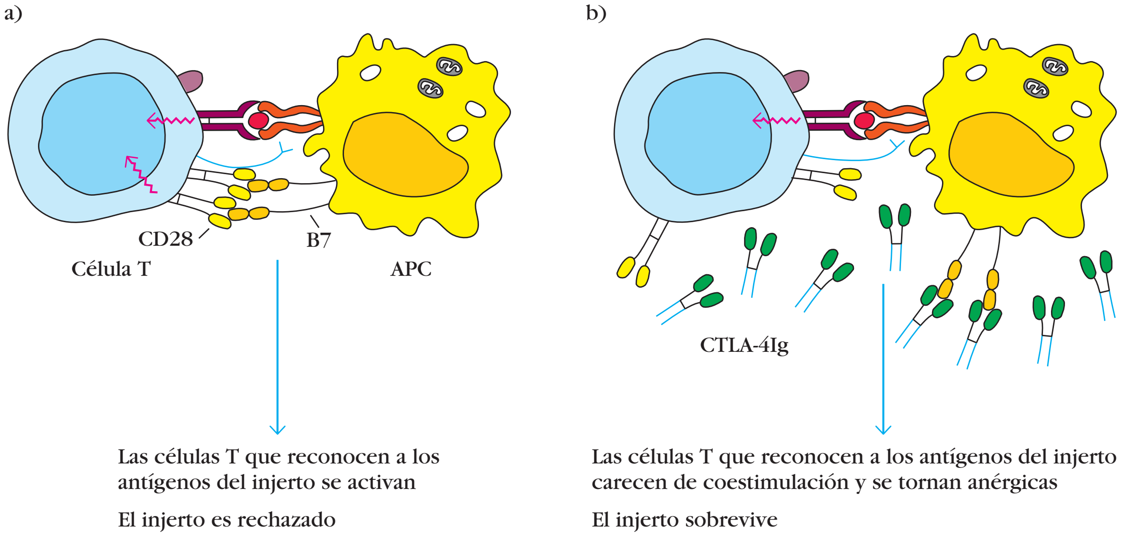

a)
CD28
B7
Célula T
APC
Las células T que reconocen a los antígenos del injerto se activan
El injerto es rechazado
b)
CTLA-4Ig
Las células T que reconocen a los antígenos del injerto carecen de coestimulación y se tornan anérgicas
El injerto sobrevive

FIGURA 17-9 El bloqueo de las señales coestimuladoras en el momento del trasplante puede ocasionar anergia en vez de activación de las células T reactivas contra el injerto. La activación de las células T requiere interacción de los receptores de las células T (TCR) con sus ligandos y reacción de los receptores coestimuladores con sus ligandos (a). En (b), el contacto entre uno de los receptores coestimuladores, CD28 sobre la célula T, y su ligando, B7 sobre la célula presentadora de antígeno (APC), queda bloqueado por la reacción de B7 con el ligando soluble CTLA-4Ig. El CTLA-4 se acopla con una cadena H de Ig, lo que hace lenta su depuración desde la circulación. Este proceso suprime de manera específica el rechazo de injerto sin inhibir la inmunorreacción a otros antígenos.

Los experimentos in vitro muestran que el inhibidor impide la fosforilación por IL-2 de JAK3 y Stat5. Dado que el compuesto tiene escaso efecto en otras cinasas afines, no se predice que inhiba procesos hematopoyéticos generales y no deberá causar trastornos como anemia, trombocitopenia o linfopenia.

Bloquear las señales coestimuladoras puede inducir anergia

Como se describió en el capítulo 10, la activación de las células T_H requiere una señal coestimuladora además de la señal mediada por el receptor de la célula T. La interacción entre la molécula B7 situada en la membrana de las células presentadoras de antígeno y las moléculas CD28 o CTLA-4 en las células T produce una señal de esta clase (fig. 10-14). Cuando falta la señal coestimuladora, las células T activadas por antígeno se vuelven anérgicas (fig. 10-15). El receptor CD28 se expresa en las células T, tanto en reposo como activadas, y se une a la molécula B7 con afinidad moderada; CTLA-4 se expresa a niveles mucho más bajos y sólo en células T activadas, pero se une a B7 con afinidad 20 veces mayor. Un segundo par de moléculas coestimuladoras requeridas para la activación de la célula T son CD40, que se encuentra en las células presentadoras de antígeno, y el ligando CD40 (CD154), que se halla en la célula T.

D. J. Lenschow, J. A. Bluestone y colaboradores demostraron que el bloqueo de la señal coestimuladora mediada por la molécula B7 con CTLA-4 después del trasplante hace que las células T del hospedador dirigidas contra el tejido injertado se tornen anérgicas, con lo que se promueve su supervivencia. En su experimento trasplantaron islotes pancreáticos humanos a ratones a los que se había inyectado CTLA-4Ig, proteína de fusión soluble constituida por los dominios extracelulares de CTLA-4 y la región constante de la cadena pesada de IgG1. Incluir la cadena pesada de IgG1 aumenta la vida media de la proteína de fusión soluble. El injerto xenogénico manifestó supervivencia prolongada, pero fue rechazado con rapidez en los animales testigos no tratados. El hecho de que la forma soluble del receptor CTLA-4 fuera capaz de bloquear el rechazo del trasplante de tejido humano en los ratones receptores comprueba que el bloqueo de las señales coestimuladoras in vivo es una estrategia viable (fig. 17-9).

Allan Kirk, David Harlan y colaboradores extendieron estos alentadores resultados al trasplante de riñones con incompatibilidad de antígenos clases I y II en monos. Los animales receptores se trataron durante unas cuatro semanas después del trasplante con CTLA-4Ig o un anticuerpo monoclonal dirigido contra el receptor de CD40L, o con ambas modalidades combinadas. Los animales testigos no tratados rechazaron los riñones incompatibles en plazo de cinco a ocho días; los tratados con un solo agente los conservaron durante 20 a 98 días. Sin embargo, los animales que recibieron ambos agentes no manifestaban pruebas de rechazo 150 días después del trasplante. Esta supresión del rechazo del aloinjerto no tuvo como consecuencia un estado de inmunosupresión general; los recuentos de células T periféricas se conservaron normales y persistieron las funciones inmunitarias, entre ellas la reactividad de linfocitos mixtos entre donante y receptores. Si los procedimientos desarrollados para monos pueden adaptarse con éxito para uso en seres humanos, podrían revolucionar los procedimientos del trasplante clínico. La capacidad de bloquear el rechazo de los aloinjertos, sin inmunosupresión general y sin los efectos adversos de los fármacos supresores, permitiría a los receptores proseguir con una vida normal.

Los agentes usados en el trasplante clínico se resumen en la figura 17-10, junto con sus sitios de acción.

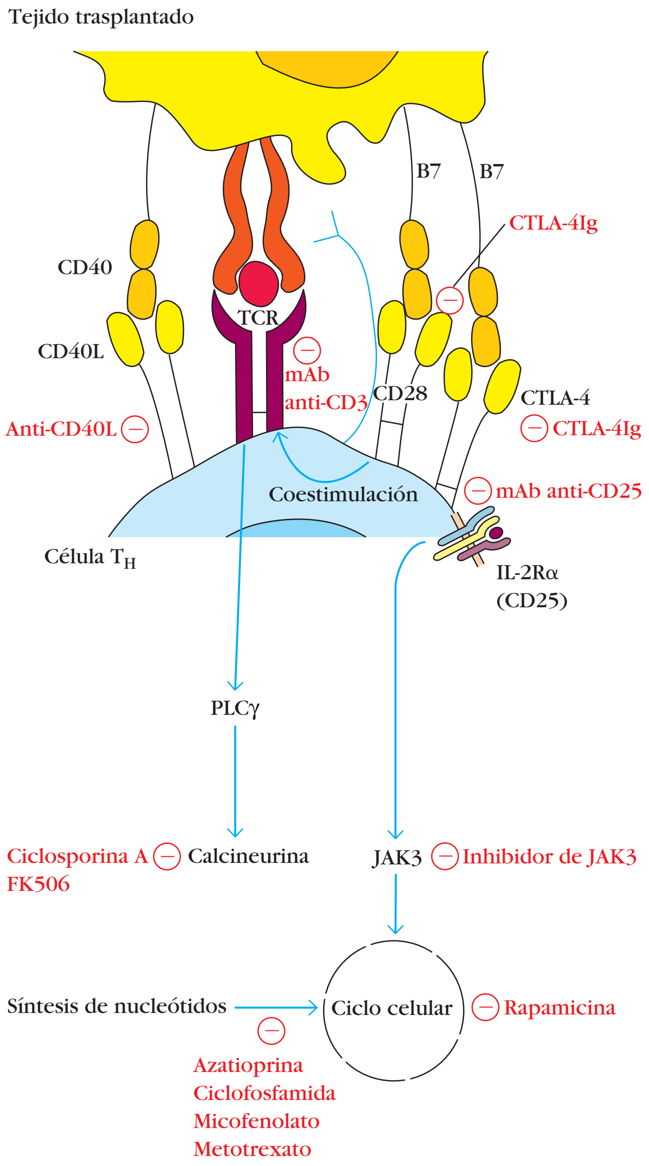


FIGURA 17-10 **Sitios de acción de diversos agentes usados en trasplante clínico.**

Inmunotolerancia a los aloinjertos

En algunos casos, el aloinjerto es aceptado sin el empleo de medidas inmunosupresoras. Es claro que en el caso de los tejidos que carecen de aloantígenos, como el cartílago o las válvulas cardíacas, que no existe una barrera inmunitaria al trasplante. Sin embargo, en ocasiones no ocurre la reacción intensa esperada a un aloinjerto. Son dos los casos en que puede aceptarse un aloinjerto: cuando las células o el tejido se injertan en lo que se denomina un sitio privilegiado, que evade la vigilancia del sistema inmunitario, y cuando se ha inducido de manera biológica un estado de tolerancia, casi siempre por exposición previa a los antígenos del donante de una manera que produce inmunotolerancia en vez de sensibilización en el receptor. Enseguida se analiza cada una de estas excepciones.

Los sitios privilegiados aceptan desigualdades antigénicas

En los sitios privilegiados desde el punto de vista inmunitario, es posible colocar un aloinjerto sin que precipite una reacción de rechazo. Entre estos sitios están cámara anterior del ojo, córnea, útero, testículos y cerebro. El saco del carrillo (abazón) del criceto sirio es un sitio privilegiado que se utiliza en situaciones experimentales. Cada uno de estos puntos se caracteriza por ausencia de vasos linfáticos y, en algunos casos, también por ausencia de vasos sanguíneos. En consecuencia, los aloantígenos del injerto no pueden sensibilizar los linfocitos del receptor y el injerto tiene mayor probabilidad de aceptación, incluso si son incompatibles los antígenos HLA.

La situación privilegiada de la córnea hace que tengan muy buenos resultados los trasplantes corneales. El encéfalo es un sitio privilegiado desde el punto de vista inmunitario porque la barrera hematoencefálica impide la entrada o la salida de muchas moléculas, entre ellas los anticuerpos. El trasplante exitoso de células insulares pancreáticas alogénicas en el timo de un modelo de rata de diabetes sugiere que el timo puede ser también un sitio privilegiado en sentido inmunitario.

Los sitios privilegiados de esta clase no inducen una inmunorreacción, ya que quedan secuestrados con eficacia de las células del sistema inmunitario. Esto sugiere la posibilidad de secuestrar de manera física las células injertadas. En un estudio se encapsularon células insulares pancreáticas en membranas semipermeables (obtenidas a partir de un copolímero de acrílico) y a continuación se trasplantaron a ratones diabéticos. Las células insulares sobrevivieron y produjeron insulina. Además, no resultaron rechazadas porque las células inmunitarias del receptor no pudieron penetrar en la membrana. Este método novedoso de trasplante permitió a los ratones diabéticos producir cantidades normales de insulina, y podría tener aplicación para el tratamiento del ser humano diabético.

La exposición temprana a los aloantígenos puede inducir tolerancia específica

En 1945, Ray Owen informó que los gemelos no idénticos de vacuno conservaban la capacidad de aceptar células o tejidos de sus hermanos genéticamente diferentes durante todas sus vidas, a diferencia de lo que ocurre en los gemelos no idénticos de otras especies de mamíferos. La placenta compartida en los bovinos posibilita la circulación libre de células de un gemelo a otro durante todo el período embrionario. Aun si los gemelos heredan antígenos paternos y maternos diferentes, no reconocen a los de sus compañeros de placenta como extraños, y pueden aceptar injertos provenientes de ellos.

El apoyo experimental del concepto según el cual la tolerancia proviene de la exposición del organismo en desarrollo a los aloantígenos procede de estudios con ratones. Si los neonatos de la cepa murina A reciben inyecciones de células de la cepa C, aceptan injertos de esta última cepa cuando son adultos. Se demuestran la inmunosuficiencia de los ratones de la cepa A que recibieron las inyecciones y la especificidad de la tolerancia porque rechazan los injertos de otras cepas con tanta rapidez como sus compañeros de camada no tratados. Aunque no hay datos experimentales en seres humanos que demuestren esta tolerancia específica, datos anecdóticos sugieren que puede operar también en el ser humano.

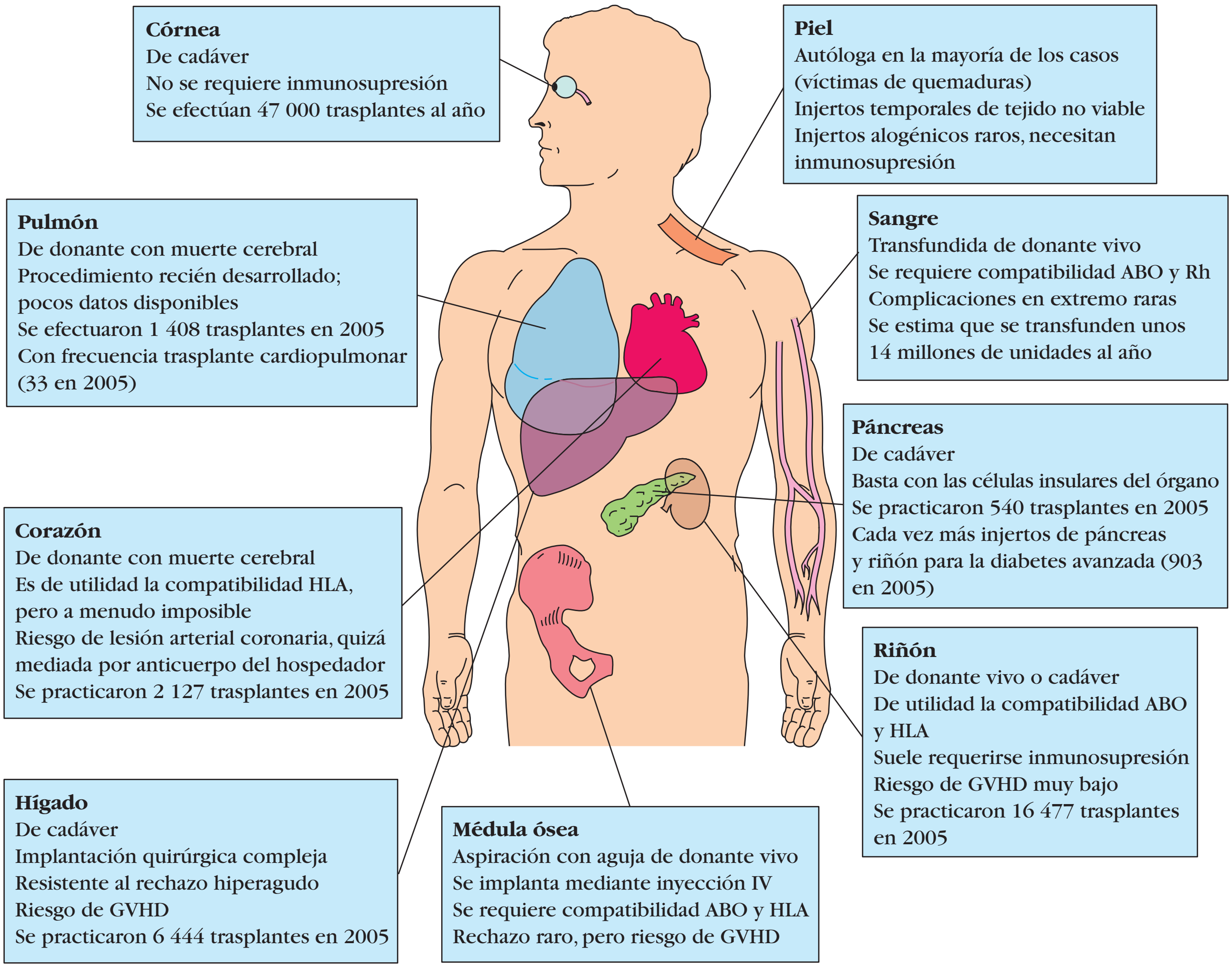
Existen ejemplos de casos en que los aloinjertos incompatibles en un locus HLA único se aceptan con poca supresión inmunitaria o ninguna. En los casos en que la madre es la que expresa el antígeno incompatible, pero no lo heredan los descendientes, se plantea la posibilidad de que la exposición perinatal indujo tolerancia ulterior a este antígeno. Como en circunstancias normales las células maternas humanas no cruzan la barrera placentaria, esta tolerancia específica a los antígenos maternos no heredados sería una excepción más que un suceso ordinario.

Los métodos para aprovechar los procesos de tolerancia a fin de permitir la aceptación de aloinjertos se han estudiado en modelos animales, pero ha sido escasa la aplicación al trasplante en seres humanos. Es difícil predecir si la introducción de médula ósea del donante para inducir un estado de quimerismo mixto o la manipulación de células T_{reg} para promover tolerancia específica serán factibles en el trasplante en seres humanos, pero constituyen un foco de intensa investigación en la actualidad.

Trasplante clínico

En diversas enfermedades el único tratamiento posible es el trasplante. En la figura 17-11 se resumen los trasplantes mayores de órganos y células que se practican en la actualidad. Además, con frecuencia creciente se llevan a cabo de manera simultánea trasplantes de ciertas combinaciones de órganos, como corazón y pulmón o riñón y páncreas. Desde que se efectuó el primer trasplante renal en el decenio de 1950 se han realizado en el

FIGURA 17-11 PARA VISUALIZACIÓN DE CONCEPTOS: Trasplantes efectuados de manera sistemática en el ejercicio clínico



Córnea
De cadáver
No se requiere inmunosupresión
Se efectúan 47 000 trasplantes al año

Piel
Autóloga en la mayoría de los casos (víctimas de quemaduras)
Injertos temporales de tejido no viable
Injertos alogénicos raros, necesitan inmunosupresión

Pulmón
De donante con muerte cerebral
Procedimiento recién desarrollado; pocos datos disponibles
Se efectuaron 1 408 trasplantes en 2005
Con frecuencia trasplante cardiopulmonar (33 en 2005)

Sangre
Transfundida de donante vivo
Se requiere compatibilidad ABO y Rh
Complicaciones en extremo raras
Se estima que se transfunden unos 14 millones de unidades al año

Páncreas
De cadáver
Basta con las células insulares del órgano
Se practicaron 540 trasplantes en 2005
Cada vez más injertos de páncreas y riñón para la diabetes avanzada (903 en 2005)

Corazón
De donante con muerte cerebral
Es de utilidad la compatibilidad HLA, pero a menudo imposible
Riesgo de lesión arterial coronaria, quizá mediada por anticuerpo del hospedador
Se practicaron 2 127 trasplantes en 2005

Riñón
De donante vivo o cadáver
De utilidad la compatibilidad ABO y HLA
Suele requerirse inmunosupresión
Riesgo de GVHD muy bajo
Se practicaron 16 477 trasplantes en 2005

Hígado
De cadáver
Implantación quirúrgica compleja
Resistente al rechazo hiperagudo
Riesgo de GVHD
Se practicaron 6 444 trasplantes en 2005

Médula ósea
Aspiración con aguja de donante vivo
Se implanta mediante inyección IV
Se requiere compatibilidad ABO y HLA
Rechazo raro, pero riesgo de GVHD

En el caso de los órganos sólidos, se indica el número de trasplantes realizados en Estados Unidos en el año 2005. Se han incluido las estimaciones de otros trasplantes cuando se dispuso de ellas.

mundo alrededor de 470 000 trasplantes de riñón. El siguiente órgano sólido trasplantado con más frecuencia es el hígado (78 000 casos), seguido por el corazón (55 000) y, en mucho menor grado, el pulmón (10 000) y el páncreas (3 500). Se estima que a finales de 2005 vivían en Estados Unidos más de 150 000 personas con órganos sólidos trasplantados. Aunque los resultados clínicos del trasplante de células, tejidos y órganos varios en seres humanos han mejorado de modo considerable durante los últimos años, persisten grandes obstáculos para la práctica de esta modalidad terapéutica. Como se explicó con anterioridad, el suministro de fármacos inmunosupresores aumenta de manera notable la supervivencia de los trasplantes a corto plazo, pero surgen problemas médicos con el uso de estas medicaciones y no es posible prevenir el rechazo crónico en la mayor parte de los casos. La necesidad de trasplantes adicionales después del rechazo exacerba la escasez de órganos, que es un obstáculo de primera importancia para la indicación generalizada de los trasplantes. Enseguida se consideran varios de los sistemas orgánicos para los que un tratamiento común es el trasplante. La frecuencia con que se trasplanta un órgano o un tejido determinado depende de diversos factores:

- Situaciones clínicas en las que está indicado el trasplante.
- Disponibilidad de tejidos u órganos.
- Dificultad para realizar el trasplante y cuidar al paciente que lo recibió.
- Factores específicos que favorecen la aceptación o el rechazo del trasplante en particular.

La urgencia del trasplante puede depender del órgano afectado. En los casos de corazón, pulmón e hígado son pocos los procedimientos alternativos que pueden conservar vivo al sujeto cuando dejan de funcionar estos órganos. Aunque de manera sistemática se usa diálisis para conservar al individuo en espera de un riñón, se trata de un régimen estricto y difícil, y algunos pacientes dejan el tratamiento de manera voluntaria. La investigación sobre órganos artificiales continúa, pero hasta la fecha no se han informado buenos resultados a largo plazo.

El órgano trasplantado con más frecuencia es el riñón

Como se mencionó con anterioridad, el órgano trasplantado más a menudo es el riñón; en 2005 se habían practicado 16 477 trasplantes de estos órganos en Estados Unidos. Los factores principales que contribuyen a estas cifras son las numerosas indicaciones clínicas para el trasplante renal. Muchas enfermedades ordinarias, como diabetes y diversos tipos de nefritis, ocasionan insuficiencia renal que se puede aliviar mediante trasplante. En cuanto a la disponibilidad, los riñones pueden obtenerse no sólo de cadáveres sino también de parientes o voluntarios vivos, ya que es posible donar un riñón y llevar una vida normal con el restante. En 2005 se obtuvieron de donantes vivos 6 562 de los 16 477 riñones trasplantados en Estados Unidos. Los procedimientos quirúrgicos para el trasplante son directos; desde el punto de vista técnico, el riñón es más simple de reimplantar que el hígado o el corazón. Como se han efectuado muchos trasplantes de riñón, se han desarrollado con detalle los procedimientos de asistencia de estas personas. La correspondencia de los grupos sanguíneos y la histocompatibilidad son ventajosas para el injerto renal porque el riñón es un órgano muy vascularizado, pero por el otro lado éste no representa problemas especiales que promuevan el rechazo o la enfermedad de injerto contra hospedador (GVHD), como sucede con la médula ósea o el hígado (lo cual se considera más adelante).

Dos problemas importantes que los pacientes que esperan un trasplante renal enfrentan son la escasez de órganos disponibles y el número creciente de receptores sensibilizados. Este último problema se origina en el rechazo de un primer trasplante, que sensibiliza al individuo y causa la formación de anticuerpos y la activación de mecanismos celulares dirigidos contra los antígenos renales. Cualquier injerto subsecuente que contenga antígenos en común con el primero será rechazado con rapidez. Por este motivo, deben practicarse procedimientos de tipificación tisular detallados para verificar que el sujeto carece de anticuerpos o mecanismos celulares activos dirigidos contra el riñón del donante potencial. En muchos casos los individuos no vuelven a encontrar un riñón compatible después de una o dos crisis de rechazo. Casi siempre es necesario mantener a los enfermos de trasplante renal con alguna forma de inmunosupresión, por lo general durante el resto de sus vidas. Por desgracia esto origina complicaciones, entre ellas los riesgos de cáncer e infección, al igual que otros efectos adversos como hipertensión y enfermedad ósea metabólica.

Se practican trasplantes de médula ósea para tratar leucemias, anemias e inmunodeficiencias

Después del renal, el siguiente trasplante más común es el de médula ósea. Desde principios del decenio de 1980 se ha adoptado con frecuencia creciente el trasplante de médula ósea como medida terapéutica para diversas afecciones hematológicas malignas y no malignas, como leucemia, linfoma, anemia aplásica, talasemia mayor e inmunodeficiencias, de manera particular la inmunodeficiencia combinada grave (SCID) (cap. 20). La médula ósea, que se obtiene de un donante vivo mediante aspiraciones múltiples con aguja, está constituida por los linajes eritroide, mieloide, monocítico, megacariocítico y linfocítico. El injerto, por lo común de unas 10^9 células por kilogramo de peso corporal del hospedador, se inyecta al receptor por vía intravenosa. Los primeros trasplantes de médula ósea con buenos resultados fueron los efectuados entre gemelos idénticos. En la actualidad, el desarrollo de los procedimientos de tipificación tisular que se han descrito ha hecho posible identificar a donantes alogénicos que tienen antígenos HLA idénticos o casi idénticos a los de los candidatos a receptores. Aunque no es un problema el abastecimiento de médula ósea para el trasplante, sí puede serlo hallar un donante compatible.

En el procedimiento ordinario, el receptor de un trasplante de médula ósea se somete a inmunosupresión antes del injerto. Por ejemplo, los sujetos leucémicos suelen tratarse con ciclofosfamida y radiación corporal total para destruir todas las células cancerosas. El estado de inmunosupresión del receptor hace raro el rechazo del injerto; empero, como la médula ósea del donante contiene células inmunocompetentes, el injerto puede rechazar al hospedador, caso en el que sobreviene la **enfermedad de injerto contra hospedador** (**GVHD**, del inglés *graft-versus-host* *disease*). La GVHD afecta a una proporción de 50 a 70% de los individuos receptores de trasplantes de médula ósea; se desarrolla al reconocer las células T del donante a los aloantígenos de las células del hospedador. La activación y la proliferación de estas células T y la producción posterior de citocinas precipitan reacciones inflamatorias en piel, tubo digestivo e hígado. En los casos graves, la GVHD puede tener como resultado eritrodermia generalizada, hemorragia del tubo digestivo e insuficiencia hepática.

Se instituyen diversos tratamientos para prevenir la GVHD en los casos de trasplante de médula ósea. El receptor suele colocarse bajo un régimen de fármacos inmunosupresores, que incluye a menudo ciclosporina A y metotrexato, con objeto de inhibir las inmunorreacciones de las células del donante. Bajo otro criterio, se trata la médula ósea del donante con antisueros contra las células T o anticuerpos monoclonales específicos de éstas antes del trasplante, con lo que se agotan las células T dañinas. Sin embargo, el agotamiento completo de las células T de la médula ósea del donante aumenta la probabilidad de que ésta sea rechazada, por lo que el procedimiento actual suele consistir en agotamiento parcial de estas células. Al parecer, la actividad de nivel bajo de las células T de donante, que causa también un nivel bajo de GVHD, es en realidad beneficioso porque las células del donante matan a las células T del hospedador que sobreviven al tratamiento inmunosupresor. Esto impide que las células residuales del receptor se sensibilicen y produzcan rechazo del injerto. En los pacientes leucémicos, la GVHD de bajo nivel parece provocar también destrucción de las células leucémicas del hospedador, con lo que se vuelve menos probable que reaparezca la leucemia.

El trasplante cardíaco es una operación desafiante

Quizá la forma más impresionante de trasplante es la de corazón. Una vez que se ha extirpado el corazón dañado, el paciente debe conservarse vivo por medios totalmente artificiales hasta que el corazón trasplantado se encuentra en su sitio y en actividad. Se dispone de máquinas cardiopulmonares para hacer circular y oxigenar la sangre del sujeto una vez que se le ha extraído el corazón. El órgano donado debe conservarse de tal manera que comience a latir cuando se coloque en el receptor. Se ha encontrado que puede conservarse viable el corazón humano durante un período limitado en soluciones amortiguadoras heladas que permiten el cortocircuito eficaz de los impulsos eléctricos que controlan el latido rítmico, los cuales podrían dañar el órgano aislado. Se dispone desde hace años de métodos quirúrgicos definidos para implantar un corazón. El primer trasplante cardíaco fue realizado en Sudáfrica por el doctor Christian Barnard en 1964. Desde esa época, la tasa de supervivencia a un año de los trasplantes de corazón ha rebasado el 80%. En 2005 se realizaron 2 127 trasplantes cardíacos en Estados Unidos y había unas 3 000 personas en listas de espera para recibir uno. Un aspecto peculiar del trasplante cardíaco ha sido un nuevo tipo de enfermedad aterosclerótica de las arterias coronarias del corazón implantado. Existe cierta posibilidad de que los anticuerpos del hospedador medien la lesión de los vasos del corazón donado.

Aunque un trasplante de corazón puede beneficiar mucho a los pacientes con diversos tipos de enfermedad o lesión cardíacas, es claro que existe una limitación estricta del número de corazones disponibles. Las víctimas de accidentes que se declaran casos de muerte cerebral, pero que tienen un aparato circulatorio intacto con corazón funcional, son las fuentes normales de estos órganos. Es deseable la compatibilidad HLA, aunque muchas veces no es posible a causa de la reserva limitada de corazones y la urgencia del procedimiento.

Los trasplantes de pulmón son cada vez más comunes

En los últimos años se ha practicado el trasplante de pulmón, ya sea solo o en conjunto con el cardíaco, para tratar enfermedades como fibrosis quística y enfisema, así como lesiones agudas de los pulmones como la producida por inhalación de humo. En 2005 se efectuaron 1 408 trasplantes pulmonares y 33 cardiopulmonares. La supervivencia de los trasplantes de pulmón durante el primer año se aproxima a 60 por ciento.

Los trasplantes de hígado se practican para tratar defectos congénitos y lesiones por agentes víricos o químicos

El hígado es un órgano grande que efectúa diversas funciones relacionadas con la depuración y la destoxificación de sustancias químicas y biológicas. La disfunción de este órgano puede deberse a lesión por enfermedades víricas, como hepatitis o exposición a sustancias químicas dañinas como el alcohol (alcoholismo crónico). La lesión del hígado puede corregirse por sí sola, y el tejido dañado suele regenerarse una vez que se ha eliminado el agente dañino causante. Si el tejido hepático no se regenera, la lesión hepática puede resultar letal. En su mayor parte, los trasplantes de hígado se realizan para tratar anormalidades congénitas de este órgano. Como es de gran tamaño y tiene una circulación complicada, la reimplantación de este órgano planteó al principio un problema técnico. Se han desarrollado procedimientos para superar este desafío quirúrgico mayor, y la tasa de supervivencia a un año aumentó en fecha reciente a cerca de 65%. En 2005 se trasplantaron 6 444 hígados en Estados Unidos. Cada vez más es posible dividir el hígado de un solo donante para su implantación en dos receptores; en condiciones normales un niño recibe la porción más pequeña y un adulto la más grande. A partir de 1998, el número de personas vivas que donan una parte de su hígado a un paciente que la necesita (por lo común un familiar cercano) ha aumentado de menos de una centena a algunos cientos al año.

La inmunología del trasplante de hígado es de gran interés, ya que el órgano parece resistir el rechazo por mecanismos hiperagudos mediados por anticuerpo. Se ha demostrado que incluso el trasplante que supera las barreras de los grupos sanguíneos, que cabría esperar desencadenara un rechazo hiperagudo, puede tener buenos resultados a corto plazo. Sin embargo, los leucocitos contenidos en el órgano donado en conjunto con los anticuerpos contra los grupos sanguíneos pueden mediar la hemólisis dependiente de anticuerpo de los eritrocitos del receptor si hay incompatibilidad entre los grupos sanguíneos. Por consiguiente, han ocurrido manifestaciones de GVHD en los trasplantes hepáticos incluso cuando son compatibles los grupos sanguíneos de donante y receptor. Estas reacciones son causadas obviamente por los linfocitos del donante que se encuentran en el hígado trasplantado.

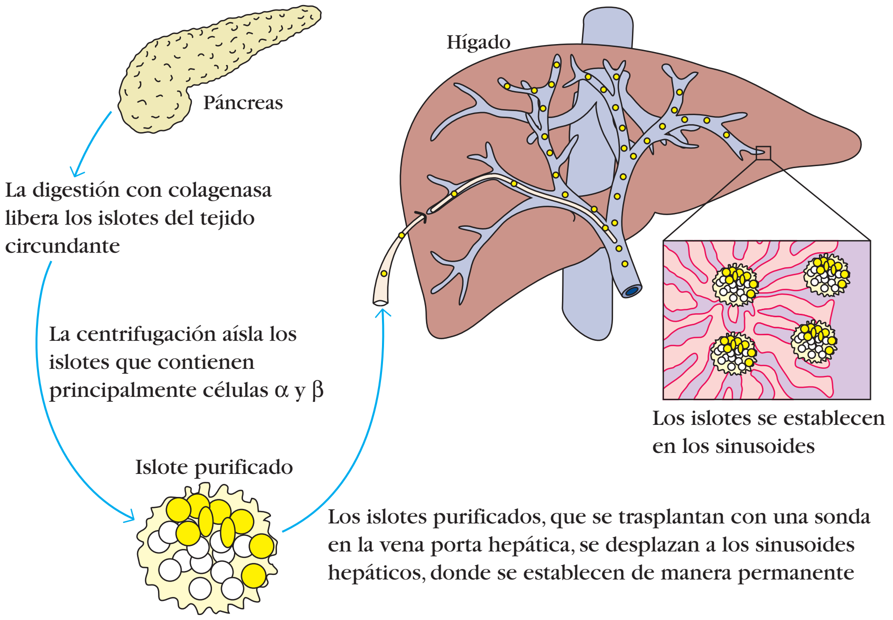

Páncreas
La digestión con colagenasa libera los islotes del tejido circundante
La centrifugación aísla los islotes que contienen principalmente células α y β
Islote purificado
Hígado
Los islotes purificados, que se trasplantan con una sonda en la vena porta hepática, se desplazan a los sinusoides hepáticos, donde se establecen de manera permanente
Los islotes se establecen en los sinusoides

FIGURA 17-12 Procedimientos usados para cosechar e implantar células de los islotes pancreáticos. El páncreas se digiere con colagenasa para liberar los islotes del tejido circundante. Los islotes se purifican entonces por centrifugación en gradiente de densidad y se infunden a través de una sonda en la vena porta hepática, de donde se dirigen a los sinusoides hepáticos.

El trasplante de páncreas ofrece una curación de la diabetes mellitus

Una de las enfermedades más frecuentes en Estados Unidos es la diabetes mellitus. Esta afección se debe a disfunción de las células insulares pancreáticas productoras de insulina. El trasplante de páncreas podría suministrar las concentraciones reguladas de forma apropiada de insulina que necesita el individuo diabético para volver a la normalidad. Hace poco se informaron tasas de éxito a un año del trasplante de páncreas cercanas a 55%. No se necesita trasplante de páncreas completo a fin de restaurar la función requerida para producir insulina de manera controlada; puede bastar para el restablecimiento de la función el trasplante de células insulares solas.

En fecha reciente se inició un estudio multicéntrico para diseñar procedimientos de aislamiento y trasplante de células insulares a fin de tratar la diabetes insulinodependiente. El procedimiento general, que se ilustra en la figura 17-12, consiste en cosechar células de los islotes y perfundirlas en el hígado, donde se establecen de manera permanente en los sinusoides hepáticos. Los resultados iniciales indican que 53% de los receptores son insulinoindependientes luego del trasplante, algunos por períodos hasta de dos años. Alrededor de 17% de los receptores se retiraron o fueron retirados del estudio, y los restantes aún requieren algo de insulina exógena; estos individuos son candidatos para trasplantes adicionales. Varios factores favorecen la supervivencia de células pancreáticas funcionales, el más importante de los cuales es el estado de las células insulares que se usan para el trasplante.

La insuficiencia renal es una complicación frecuente de la diabetes avanzada; ocurre en alrededor de 30% de las personas diabéticas, de modo que en estos casos podría estar indicado el trasplante de riñón y páncreas. En 2005 se habían efectuado 540 trasplantes de páncreas y 903 trasplantes simultáneos de riñón y páncreas. Aún debe decidirse caso por caso si es mejor realizar trasplantes simultáneos de riñón y páncreas o trasplantar estos órganos de manera separada. Sin embargo, el valor de un trasplante renal para los diabéticos se refleja en el hecho de que la supervivencia media para un diabético tipo 1 sometido a diálisis es de 3.5 años, comparada con una supervivencia de 72% a ocho años para receptores de un trasplante de riñón de donante vivo.

Se emplean injertos cutáneos para tratar a las víctimas de quemaduras

La mayor parte de los trasplantes de piel en seres humanos se efectúa con tejido autólogo. No obstante, en los casos de quemaduras graves pueden usarse injertos de piel extraña recalentada obtenida de los depósitos de piel congelada de los bancos de tejidos. Por lo general, estos injertos actúan como apósitos biológicos, puesto que sus elementos celulares han dejado de ser viables y el injerto no prende ni crece en el nuevo hospedador; los injertos se dejan colocados durante varios días pero se cambian con regularidad. Se han llevado a cabo en algunos casos injertos verdaderos de piel alogénica recién obtenida de donantes viables, pero es indispensable en estos casos prevenir el rechazo mediante tratamiento inmunosupresor. Esto no es conveniente, toda vez que un problema de primera importancia de las víctimas de quemaduras es el riesgo elevado de infección, y el tratamiento inmunosupresor acrecienta este riesgo.

La lista anterior de trasplantes frecuentes no es de ningún modo completa, y cabe esperar que crezca en los próximos años. Por ejemplo, los injertos de células nerviosas intracerebrales han restaurado la función en las víctimas de enfermedad de Parkinson. En los estudios realizados hasta ahora las células nerviosas de donante se obtenían de embriones humanos; ahora está a prueba la posibilidad de emplear las de otras especies animales. Se recomienda el uso de células de sangre de cordón umbilical en pacientes con leucemia, y están aumentando las instalaciones para almacenar esa sangre. Entre las ventajas se incluyen criterios de compatibilidad menos estrictos que para los trasplantes de médula ósea y facilidad para adquirir la sangre de un depósito. Una desventaja para los receptores adultos es el número relativamente bajo de células madre hematopoyéticas en la sangre de cordón umbilical.

El xenotrasplante puede ser la solución ante la escasez de órganos de donante humano

Aunque el sistema inmunitario representa una barrera formidable para los trasplantes, han sido notables los progresos para superar este obstáculo. Sin embargo, no han ocurrido progresos equivalentes en la solución del complejo problema de encontrar órganos para quienes los necesitan. La reserva insuficiente de órganos disponibles significa que mueren grandes porcentajes de pacientes mientras esperan la oportunidad de recibir el trasplante necesario. La mortalidad entre quienes esperan un riñón es de 6%, y de 14% para quienes necesitan un corazón. La necesidad de una fuente alternativa de órganos donados ha hecho dirigir la atención al xenotrasplante. Los primates no humanos de mayor tamaño (chimpancés y babuinos) han servido como los donantes principales de trasplantes y, como se describe en el enfoque clínico de este capítulo, es posible criar cerdos genéticamente modificados como fuente de órganos para uso humano.

Los primeros trasplantes de riñón de chimpancé al ser humano datan de 1964. Desde ese tiempo se han hecho intentos esporádicos de trasplantar riñones, corazón, hígado y médula ósea de los primates al ser humano. Ningún intento ha tenido grandes resultados, pero varios han recibido cierta atención. En 1993, T. E. Starzl efectuó dos trasplantes de hígado de babuino a personas que sufrían insuficiencia hepática. Ambos pacientes fallecieron, uno a los 26 días y el otro a los 70 días. En 1994 se trasplantó un hígado de cerdo a un sujeto de 26 años de edad que sufría insuficiencia hepática aguda. El hígado funcionó sólo durante 30 horas antes de producir una reacción de rechazo hiperagudo. En 1995 se administró médula ósea de babuino a un varón infectado por el VIH con la finalidad de reforzar su inmunosistema debilitado con las células inmunitarias de este animal, que no fueron infectadas por el virus. Aunque no hubo complicaciones del trasplante, la médula ósea del babuino no se estableció en el receptor.

Un problema de mayor importancia con los xenotrasplantes consiste en que el rechazo inmunitario suele ser muy intenso, incluso cuando los receptores se tratan con agentes inmunosupresores potentes como FK-506 o rapamicina. La reacción mayor consiste en acción de anticuerpo humoral y complemento, que llevan a una reacción de rechazo hiperagudo. Además del problema del rechazo, preocupa en general que el xenotrasplante tenga el potencial de transmitir gérmenes patógenos desde el donante hacia el receptor. Éstos podrían ocasionar enfermedades, denominadas xenozoonosis, que son letales para el ser humano. Por ejemplo, ciertos virus, entre ellos los parientes cercanos del VIH-1 que se encuentran en los chimpancés y el VIH-2 y el virus B del herpes, que se hallan en diversas especies de primates, tienen una patogenia limitada en sus hospedadores originales pero pueden causar infecciones mortíferas en el ser humano. En consecuencia, hay temor de que los retrovirus de los primates (cap. 20), como el SIV, se recombinen con variantes humanas para producir nuevos agentes patológicos. La posibilidad de introducir nuevos virus en el ser humano puede ser mayor con los trasplantes de especies estrechamente relacionadas, como las de los otros primates, y menor en el caso de las especies que tienen una relación más lejana, como los cerdos, porque es menos probable que sus virus se multipliquen en células de especies no relacionadas.

RESUMEN

- El rechazo de injerto es una inmunorreacción que manifiesta atributos como especificidad, memoria y reconocimiento de lo propio y lo extraño. Son tres los tipos principales de reacciones de rechazo:
  - Reacción hiperaguda mediada por anticuerpos preexistentes en el hospedador contra los antígenos del injerto.
  - Rechazo agudo del injerto en el que median la lesión tisular células T_H, linfocitos citotóxicos o ambos.
  - Rechazo crónico, caracterizado por componentes inmunitarios celulares y humorales.
- La inmunorreacción a los antígenos tisulares codificados por el complejo de histocompatibilidad mayor es la fuerza más poderosa en el rechazo.
- La compatibilidad entre un receptor y sus donantes potenciales de injertos se valora mediante tipificación de los antígenos tisulares de MHC clases I y II.
- El proceso del rechazo del injerto se puede dividir en una etapa de sensibilización, en la que se estimulan las células T, y una etapa efectora, durante la cual atacan al injerto.
- En la mayor parte de las situaciones clínicas el rechazo del injerto se anula mediante agentes inmunosupresores inespecíficos o radiación X linfoide total.
- Los métodos experimentales en que se emplean anticuerpos monoclonales ofrecen la posibilidad de inmunosupresión específica. Estos anticuerpos pueden actuar por:
  - Supresión de las poblaciones de células reactivas.
  - Inhibición de las señales coestimuladoras que culmina en anergia de células reactivas de manera específica.
- Ciertos sitios del cuerpo, como córnea, encéfalo, testículo y útero, no rechazan los trasplantes a pesar de la desigualdad genética entre donante y receptor.
- Se induce tolerancia específica a los aloantígenos al exponerlos durante la vida intrauterina o mediante inyección de los recién nacidos.
- Una complicación mayor en caso de trasplante de médula ósea es la reacción de injerto contra hospedador mediada por los linfocitos contenidos en la médula donante.
- La escasez crítica de órganos disponibles para el trasplante podría resolverse en el futuro mediante empleo de órganos de especies no humanas (xenotrasplantes).

Bibliografía

Adams, D. H. 2000. Cardiac xenotransplantation: clinical experience and future direction. *Annals of Thoracic Surgery* **70:**320.

Auchincloss, H., M. Sykes, and D. H. Sachs. 1999. Transplantation immunology. In *Fundamental Immunology*, 4th ed. W. E. Paul, ed. Lippincott-Raven, Philadelphia, p. 1175.

Claas, F. H. J., et al. 2004. A critical appraisal of HLA matching in today's renal transplantation. *Transplantation Reviews* **18:**96.

Fox, A., and L. C. Harrison. 2000. Innate immunity and graft rejection. *Immunological Reviews* **173:**141.

Halloran, P. F. 2004. Immunosuppressive drugs for kidney transplantation. *New England Journal of Medicine* **351:**26.

Harlan, D. M., and A. D. Kirk. 1999. The future of organ and tissue transplantation: can T-cell co-stimulatory pathway modifiers revolutionize the prevention of graft rejection? *Journal of the American Medical Association* **282:**1076.

Kuwaki, K., et al. 2005. Heart transplantation in baboons using alpha 1, 3 galactosyltransferase gene-knockout pigs as donors: initial experience. *Nature Medicine* **11:**29.

Lenschow, D. J., et al. 1992. Long-term survival of xenogeneic pancreatic islets induced by CTLA4-Ig. *Science* **257:**789.

Obata, F., et al. 2005. Contribution of $CD4^+$ and $CD8^+$ T cells and interferon-gamma to the progress of chronic rejection of kidney allografts: the Th1 response mediates both acute and chronic rejection. *Transplant Immunology* **14:**21.

Ricordi, C., and T. B. Strom. 2004. Clinical islet transplantation: advances and immunological challenges. *Nature Review Immunology* **4:**259.

Sayegh, M. H., and C. B. Carpenter. 2004. Transplantation 50 years later—progress, challenges, and promises. *New England Journal of Medicine* **351:**26.

Waldmann, H., and S. Cobbold. 2004. Exploiting tolerance processes in transplantation. *Science* **305:**209.

Walsh, P. T., T. B. Strom, and L. A. Turka. 2004. Routes to transplant tolerance versus rejection: the role of cytokines. *Immunity* **20:**121.

Sitios útiles de la red

http://www.transweb.org

Contiene enlaces con cientos de sitios en los que se ofrece información sobre todos los aspectos del trasplante de órganos.

http://www.unos.org

Página de la United Network for Organ Sharing, que contiene información relacionada con los trasplantes de órganos sólidos destinada a pacientes, familiares, médicos y profesores.

http://www.marrow.org

La página web del National Marrow Donor Program contiene información sobre todos los aspectos del trasplante de médula ósea.

Preguntas de estudio

PREGUNTA DE ENFOQUE CLÍNICO ¿Qué características serían deseables en un donante animal ideal para xenotrasplante? ¿Cómo sometería usted a prueba su modelo antes de realizar pruebas clínicas en seres humanos?

1. Indique si cada una de las afirmaciones que siguen es verdadera o falsa. Si cree que alguna es falsa, explique el motivo.
   a. El rechazo agudo es mediado por anticuerpos específicos preexistentes en el hospedador para los antígenos del tejido injertado.
   b. El rechazo de segunda intención es una manifestación de memoria inmunitaria.
   c. Las células dendríticas del hospedador pueden migrar hacia el tejido injertado y actuar como células presentadoras de antígeno.
   d. Se aceptan todos los aloinjertos entre individuos con haplotipos HLA idénticos.
   e. Las citocinas producidas por las células T_H del hospedador activadas como reacción a los aloantígenos tienen un papel de primer orden en el rechazo de injerto.

2. Usted es un cirujano en un centro de trasplantes importante. Uno de sus pacientes espera un trasplante de riñón. Tras un accidente grave quedan disponibles varios órganos de cadáver. Su técnico realiza una prueba de microtoxicidad en los donantes potenciales y obtiene los resultados que se muestran en la figura adjunta. El paciente se sometió a prueba antes y fue positivo para los anticuerpos usados en los fosos 2 y 3, y negativo para los anticuerpos usados en los fosos 1 y 4 para cada uno de los determinantes HLA.

	HLA-A				HLA-B				HLA-DR			
	1	2	3	4	1	2	3	4	1	2	3	4
Donante 1	○	●	○	●	○	●	●	○	○	●	●	○
Donante 2	○	●	●	○	○	●	●	○	○	●	●	○
Donante 3	○	●	●	○	○	●	●	○	●	○	●	○
Donante 4	●	○	○	●	●	●	○	○	●	○	○	●

   a. ¿Cuál donante sería su primera elección?
   b. Si ese órgano no fuera utilizable, ¿cuál de los órganos restantes consideraría?
   c. ¿Cuál es la base científica de su decisión?
   d. ¿Qué prueba puede realizar el técnico para confirmar que el donante potencial es compatible con el receptor?

3. Indique en la columna de respuestas del cuadro adjunto si un injerto de piel de cada donante a cada receptor daría por resultado reacción de rechazo (R) o de aceptación (A). Si cree que ocurriría una reacción de rechazo, indique en la columna de la derecha si sería un rechazo de primera intención (RPI), que se produce en plazo de 12 a 14 días, o un rechazo de segunda intención (RSI), que ocurre en plazo de cinco a seis días. Todas las cepas de ratón señaladas en el cuadro tienen haplotipos H-2 diferentes.

Donante	Receptor
BALB/c	C3H
BALB/c	Rata
BALB/c	Ratón lampiño
BALB/c	C3H, se sometió a un injerto BALB/c previo
BALB/c	C3H, se sometió a un injerto C57BL/6 previo
BALB/c	BALB/c
BALB/c	$(\text{BALB/c} \times \text{C3H})F_1$
BALB/c	$(\text{C3H} \times \text{C57BL/6})F_1$
$(\text{BALB/c} \times \text{C3H})F_1$	BALB/c
$(\text{BALB/c} \times \text{C3H})F_1$	BALB/c, se sometió un injerto F_1 previo

4. A menudo se desarrolla enfermedad de injerto contra hospedador (GVHD) después de ciertos tipos de trasplantes.
    a. Describa con brevedad los mecanismos que participan en la GVHD.
    b. ¿Bajo qué condiciones es probable que ocurra GVHD?
    c. Algunos investigadores han encontrado que se puede disminuir la GVHD mediante tratamiento previo del injerto con anticuerpo monoclonal más complemento o con anticuerpo monoclonal conjugado con toxinas. Indique por lo menos dos antígenos de superficie celular contra los que podrían elaborarse anticuerpos monoclonales y emplearse con esta finalidad, y explique su razonamiento para decidir las opciones.
5. Cada uno de los padres y sus cinco hermanos ofrecen donar un riñón a un niño que lo requería.
    a. Se investigan las células de estos donantes potenciales con anticuerpos monoclonales contra los antígenos HLA-A, HLA-B y HLA-C en una prueba de microcitotoxicidad. Por lo tanto, se llevan a cabo determinaciones de los grupos sanguíneos ABO. Con base en los resultados del cuadro superior, ¿el injerto de riñón de qué donante(es) tiene más probabilidades de sobrevivir?

	Tipo ABO	Tipo HLA-A	Tipo HLA-B	Tipo HLA-C
Receptor	O	*A1/A2*	*B8/B12*	*Cw3*
Madre	A	*A1/A2*	*B8/B12*	*Cw1/Cw3*
Padre	O	*A2*	*B12/B15*	*Cw3*
Hermano A	O	*A1/A2*	*B8/B15*	*Cw3*
Hermano B	O	*A2*	*B12*	*Cw1/Cw3*
Hermano C	O	*A1/A2*	*B8/B12*	*Cw3*
Hermano D	A	*A1/A2*	*B8/B12*	*Cw3*
Hermano E	O	*A1/A2*	*B8/B15*	*Cw3*

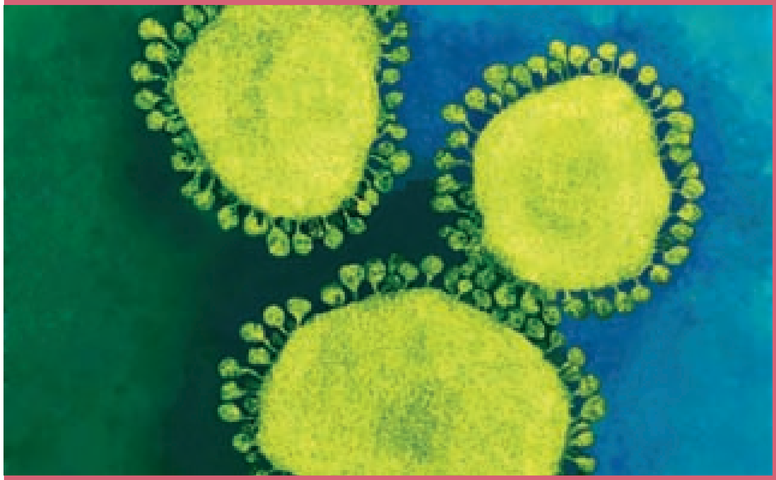
    b. En la actualidad se efectúa una reacción de linfocitos mixtos de una sola vía en la que se utilizan diversas combinaciones de linfocitos tratados con mitomicina. Los resultados, expresados como cuentas por minuto de timidina [^{3}H] incorporada, se indican en el cuadro inferior; el índice de estimulación (razón entre el valor experimental y el testigo en el que se mezclan leucocitos idénticos) se señala entre paréntesis. Con base en estos datos, ¿cuál o cuáles serían los donantes cuyo injerto tendría más probabilidades de ser aceptado?
6. ¿Cuáles son las bases biológicas para intentar el empleo de CTL4A soluble o anti-CD40L para bloquear el rechazo de aloinjerto?, ¿por qué sería mejor esto que tratar al receptor del injerto con CsA o FK-506?
7. Inmediatamente después del trasplante, a menudo se dan al paciente grandes dosis adicionales de fármacos contra el rechazo, que se dejan diluir después. Describa los efectos de los fármacos usados comúnmente con ese fin (azatioprina, ciclosporina A, FK506 y rapamicina). ¿Por qué es posible reducir el uso de algunos de estos fármacos en algún momento después del trasplante?

Para emplearse con la pregunta 5b

Células reactivas	Células estimuladoras tratadas con mitomicina C					
	Paciente	Hermano A	Hermano B	Hermano C	Hermano D	Hermano E
Paciente	1 672 (1.0)	1 800 (1.1)	13 479 (8.1)	5 210 (3.1)	13 927 (8.3)	13 808 (8.3)
Hermano A	1 495 (1.6)	933 (1.0)	11 606 (12.4)	8 443 (9.1)	11 708 (12.6)	13 430 (14.4)
Hermano B	25 418 (9.9)	26 209 (10.2)	2 570 (1.0)	13 170 (5.1)	19 722 (7.7)	4 510 (1.8)
Hermano C	10 722 (6.2)	10 714 (5.9)	13 032 (7.5)	1 731 (1.0)	1 740 (1.0)	14 365 (8.3)
Hermano D	15 988 (5.1)	13 492 (4.2)	18 519 (5.9)	3 300 (1.1)	3 151 (1.0)	18 334 (5.9)
Hermano E	5 777 (6.5)	8 053 (9.1)	2 024 (2.3)	6 895 (7.8)	10 720 (12.1)	888 (1.0)

capítulo 18

Inmunorreacción a las enfermedades infecciosas



Coronavirus del SARS. [Dra. Linda Stannard, UCT/Photo Researchers.]

- Infecciones víricas
- Infecciones bacterianas
- Enfermedades parasitarias
- Enfermedades micóticas
- Enfermedades infecciosas emergentes

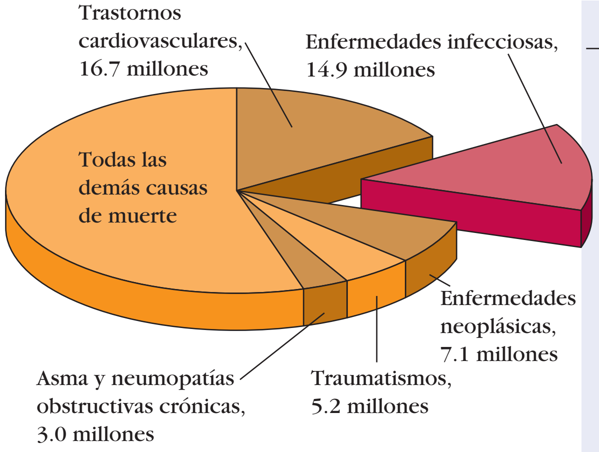
Una serie de sucesos coordinados debe superar tanto la inmunidad innata como la adaptativa para que un agente patógeno establezca una infección en un hospedador susceptible. Uno de los primeros y más importantes aspectos de la inmunidad innata del hospedador es la barrera que las superficies epiteliales como la piel y la mucosa que reviste el tubo digestivo constituyen. La dificultad para penetrar estas barreras epiteliales garantiza que la mayor parte de los agentes patógenos no logre jamás un ingreso productivo en el hospedador. Además de oponer una barrera física a las infecciones, los epitelios producen sustancias químicas que son de utilidad para prevenir las infecciones. La secreción de enzimas y ácido por las células epiteliales especializadas del estómago disminuye el pH en el interior de este órgano y la parte alta de las vías digestivas, y otras células especializadas del intestino producen péptidos antibacterianos.

Una característica importante de la inmunidad innata es la presencia de flora normal en las vías gastrointestinales, genitourinarias y respiratorias. Estos llamados microorganismos comensales inhiben de manera competitiva la fijación de patógenos a las células del hospedador. Además, las reacciones innatas pueden bloquear el establecimiento del proceso infeccioso. Por ejemplo, las paredes celulares de algunas bacterias grampositivas contienen un peptidoglucano que activa la vía alterna del complemento, lo que ocasiona opsonización y fagocitosis o posiblemente lisis (cap. 7). Algunas bacterias elaboran endotoxinas como lipopolisacáridos (LPS), que estimulan la producción de citocinas como TNF-α, IL-1 e IL-6 por los macrófagos o las células endoteliales. Estas citocinas pueden activar los macrófagos. La fagocitosis de las bacterias por los macrófagos y otras células con esta función es otra línea de gran eficacia de las defensas innatas. Sin embargo, algunos tipos de bacterias que suelen proliferar dentro de las células desarrollan mecanismos que les permiten resistir la degradación dentro del fagocito.

Los virus comúnmente estimulan reacciones innatas. En particular, muchos virus inducen la producción de interferones, que pueden inhibir la multiplicación vírica al desencadenar una reacción antivírica. También las células asesinas naturales (NK) controlan los virus. A menudo dichas células constituyen la primera línea de defensa contra las infecciones víricas (cap. 14).

En general los patógenos recurren a diversas estrategias para escapar a la destrucción por el sistema inmunitario adaptativo. Muchos patógenos reducen su propia antigenicidad al proliferar en el interior de sus células hospedadoras, en las que quedan secuestrados contra el ataque inmunitario, o al desprenderse de sus antígenos de membrana. Otros patógenos se ocultan mimetizándose con las superficies de las células que los albergan, ya sea mediante la expresión de moléculas con secuencias de aminoácidos semejantes a las propias de moléculas contenidas en la superficie de estas células o por la adquisición de una cubierta de moléculas de membrana del hospedador. Algunos agentes patógenos son capaces de suprimir de manera selectiva la inmunorreacción o regularla, de modo que se activa una rama del sistema inmunitario que es ineficaz contra ellos. La variación continua en los antígenos de superficie es otra estrategia de los microorganismos que les permite eludir el sistema inmunitario. Esta variación antigénica puede deberse a la acumulación gradual de mutaciones o consistir en un cambio repentino en sus antígenos de superficie.

Tanto las inmunorreacciones innatas como las adaptativas a los agentes patógenos constituyen un mecanismo de defensa de importancia crítica, pero las enfermedades infecciosas, que han plagado a las poblaciones humanas en el transcurso de la historia, aún producen la muerte de millones de personas cada año. Aunque el empleo generalizado de vacunas y medidas farmacoterapéuticas reduce de manera drástica la mortalidad por enfermedades infecciosas en los países desarrollados, estos padecimientos aún se cuentan entre las principales causas



Enfermedades infecciosas	Muertes anuales
Infecciones respiratorias	3.96
VIH/SIDA	2.77
Enfermedades diarreicas	1.80
Tuberculosis	1.56
Enfermedades infantiles prevenibles por vacunación	1.12
Paludismo	1.27
Enfermedades de transmisión sexual (excepto VIH)	0.18
Meningitis	0.17
Hepatitis B y C	0.16
Enfermedades tropicales parasitarias	0.13
Dengue	0.02
Otras enfermedades infecciosas	1.76

FIGURA 18-1 Las enfermedades infecciosas se encuentran entre las principales causas de muerte a nivel mundial. Los 14.9 millones de muertes atribuibles directamente a infecciones se separan por categorías en el cuadro.

de muerte en el Tercer Mundo. A nivel global, se estima que cada año ocurren 15 millones de muertes como resultado directo de enfermedades infecciosas (fig. 18-1). En comparación, se producen unos 7.1 millones de muertes relacionadas con cáncer y alrededor de 16.7 millones de muertes como resultado de disfunción cardiovascular. Además de la carga de enfermedades infecciosas, que recae sobre todo en los países menos desarrollados, algunas enfermedades están comenzando a surgir o resurgir en dichas naciones. Nuevas enfermedades como el síndrome respiratorio agudo grave causado por un coronavirus podrían propagarse con rapidez como resultado de la movilidad internacional. Algunas cepas de gripe prevalentes en aves se adaptan para infectar al ser humano con alta mortalidad, debido a que nuestra especie ha desarrollado poca inmunidad a esas cepas. Infecciones antes raras causadas por determinados hongos y bacterias están aumentando debido al incremento en la cantidad de personas con trastornos de la inmunidad a consecuencia de la infección por el VIH y del uso de fármacos inmunosupresores administrados con diversos fines. Enfermedades reemergentes como las causadas por las cepas farmacorresistentes de *Staphylococcus aureus* y *Mycobacterium tuberculosis* están propagándose a un ritmo alarmante tanto en naciones en vías de desarrollo como en países industrializados. En algunos casos, una bacteria común puede causar una nueva enfermedad, como la fascitis necrosante causada por la llamada cepa carnívora de *Streptococcus pyogenes*, un microorganismo más a menudo vinculado con la ahora rara escarlatina.

Dependemos del sistema inmunitario para que nos proteja de los patógenos comunes y ubicuos así como de los que surgirán en el futuro. La supervivencia de la especie humana hasta la fecha indica que ésta es una expectativa realista, pero la gran cantidad y la rápida evolución de los patógenos podrían ayudarles a establecer un asidero en nuestra especie. La historia reciente del VIH y el SIDA (cap. 20) demuestra la amenaza que los agentes infecciosos representan para la salud pública. Los patógenos suficientemente dotados para vencer la inmunidad pueden causar gran sufrimiento. Aunque el sistema inmunitario nos protege, la patogenia de varias enfermedades no resulta del ataque directo a las células o los tejidos por los patógenos o sus toxinas, sino del daño causado por la reacción inmunitaria del hospedador. Tal daño puede producirse en el momento de la infección o aparecer meses o años después de que la enfermedad ha pasado. Artritis posinfecciosa y glomerulonefritis son ejemplos de tales efectos posteriores o secuelas. Al enfrentar la infección, la inmunidad es una poderosa fuerza que necesita ponderar un delicado balance entre la eliminación del patógeno y la amenaza de dañar al hospedador.

En este capítulo, los conceptos de inmunidad descritos a lo largo del texto se aplican a enfermedades infecciosas selectas causadas por virus, bacterias, parásitos y hongos, los cuatro tipos principales de patógenos. Es imposible cubrir en un solo capítulo todas las enfermedades conocidas, así que se seleccionaron para la exposición afecciones comunes que afectan un gran número de personas o que ilustran conceptos generales (o ambas cosas), así como algunas enfermedades que han recibido mucha atención pública en fechas recientes.

Infecciones víricas

Los virus son segmentos cortos de ácido nucleico con una cubierta de proteína o lipoproteína. Requieren recursos del hospedador para multiplicarse. Típicamente, un virus ingresa en una célula a través de un receptor de superficie celular por el que tiene afinidad, y toma el control de la maquinaria biosintética de la célula para multiplicar todos sus componentes, incluido el genoma. En muchos casos, el proceso de multiplicación genómica es propenso a errores, por lo cual genera numerosas mutaciones. Dado que en un ciclo de multiplicación se producen grandes cantidades de nuevos virus, estos mutantes pueden ser seleccionados de manera evolutiva por su capacidad de autopropagarse.

Desde el punto de vista de la supervivencia, es más probable que el virus prospere si no mata al hospedador: la coexistencia sostenida favorece la supervivencia continua del virus. Sin embargo, la mutabilidad del genoma vírico a veces da origen a mutantes letales que no establecen este estado de equilibrio con el hospedador. Si tales mutantes causan la muerte de éste, para

CUADRO 18-1 Mecanismos de las reacciones inmunitarias humoral y mediada por células a los virus

Tipo de reacción	Molécula o célula efectora	Actividad
Humoral	Anticuerpo (en especial IgA secretoria)	Bloquea la fijación del virus a la célula hospedadora, con lo que previene la infección o la reinfección
	Anticuerpos IgG, IgM e IgA	Bloquea la fusión de la cubierta vírica con la membrana plasmática de la célula hospedadora
	Anticuerpos IgG e IgM	Fomenta la fagocitosis de las partículas víricas (opsonización)
	Anticuerpo IgM	Aglutina las partículas víricas
	Complemento activado por anticuerpo IgG o IgM	Media la opsonización por C3b y la lisis de las partículas víricas cubiertas por el complejo de ataque de membrana
Mediada por células	IFN-γ secretado por células T_H o T_C	Tiene actividad antivírica directa
	Linfocitos T citotóxicos (CTL)	Mata las células propias infectadas por virus
	Células NK y macrófagos	Mata las células propias infectadas por virus mediante citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo (ADCC)

sobrevivir el virus debe ser capaz de propagarse a nuevos hospedadores antes de que deje de ser posible la multiplicación en el hospedador original. Entre las estrategias de supervivencia de que disponen los virus se encuentra un largo período de latencia antes de que ocurra enfermedad grave o la muerte, tiempo durante el cual el hospedador puede transmitir el virus a otros. El VIH emplea tal estrategia. Otra es la transmisión fácil, en la cual la infección se transfiere de manera eficiente incluso durante una breve enfermedad aguda. Los virus de gripe y viruela usan esta estrategia. El ciclo de vida de los virus patógenos para el ser humano también puede incluir hospedadores de otras especies. El virus del oeste del Nilo o nilooccidental (WNV, del inglés *West Nile virus*), por ejemplo, se multiplica muy bien en determinadas especies de aves y es transmitido por mosquitos desde las aves infectadas hasta caballos y seres humanos, que en este caso constituyen lo que se denomina hospedadores sin salida. La transmisión del WNV por mosquitos de un ser humano a otro es ineficiente porque el título de virus en la sangre humana es bajo y la cantidad de sangre transferida por la picadura del insecto es pequeña y no contiene suficientes virus para causar infección. Sin embargo, el WNV puede ser transferido entre seres humanos por transfusiones sanguíneas, y puede pasar de una madre a su neonato.

Algunos mecanismos efectores específicos de la inmunidad, junto con mecanismos de defensa inespecíficos, entran en juego para prevenir o eliminar la infección vírica (cuadro 18-1). El paso a través de la mucosa de las vías respiratorias, genitourinarias y gastrointestinales explica la mayor parte de la transmisión vírica. El ingreso del virus también puede ocurrir por soluciones de continuidad en la piel, por lo común como resultado de una picadura o mordedura de insecto o una herida. Una vez dentro del hospedador, el virus es sometido al asedio de los mecanismos inmunitarios innatos y adaptativos destinados a destruirlo. El resultado de la infección depende de la eficacia con que los mecanismos de defensa del hospedador resistan las tácticas ofensivas del virus.

La reacción inmunitaria innata contra las infecciones víricas consiste sobre todo en inducción de interferones tipo I (IFN-α e IFN-β) y activación de las células NK. Las moléculas de RNA de doble cadena o bicatenarias (dsRNA) que se producen durante el ciclo de vida vírico son detectadas por receptores tipo Toll (TLR), que inducen la expresión de IFN-α e IFN-β por la célula infectada. Macrófagos, monocitos y fibroblastos también son capaces de sintetizar estas citocinas, pero los mecanismos que promueven la producción de interferones tipo I en estas células aún no se aclaran por completo. Tanto IFN-α como IFN-β pueden inducir una reacción antivírica o resistencia a la multiplicación del virus al fijarse al receptor de IFN-α/β, con lo que activan la vía JAK-STAT (fig. 12-10), que a su vez induce la transcripción de varios genes. Uno de ellos codifica una enzima conocida como 2′-5′-oligo-adenilsintetasa, que activa una ribonucleasa (RNA-asa L) que degrada el RNA vírico. Otros genes activados por la fijación de IFN-α e IFN-β a su receptor también contribuyen a inhibir la multiplicación vírica. Por ejemplo, la fijación de IFN-α/β induce una cinasa de proteína específica denominada cinasa de proteína dependiente de dsRNA (PKR), que desactiva la síntesis de proteínas y por tanto bloquea la multiplicación vírica dentro de las células infectadas (fig. 18-2).

La fijación de IFN-α e IFN-β a las células NK induce actividad lítica, y las hace muy eficaces para matar las células infectadas por virus. La IL-12, una citocina que se produce muy al principio de la reacción a la infección vírica, incrementa en gran medida la actividad de las células NK.

Muchos virus son neutralizados por anticuerpos

A menudo los anticuerpos específicos para los antígenos de la superficie vírica resultan cruciales para frenar la diseminación de un virus durante la infección aguda y para proteger contra la reinfección. Los anticuerpos tienen eficacia particular para proteger contra la infección si se localizan en el sitio de entrada del virus en el cuerpo. La mayor parte de los virus expresa moléculas receptoras en su superficie que les permite iniciar la infección al fijarse a moléculas de membrana específicas de

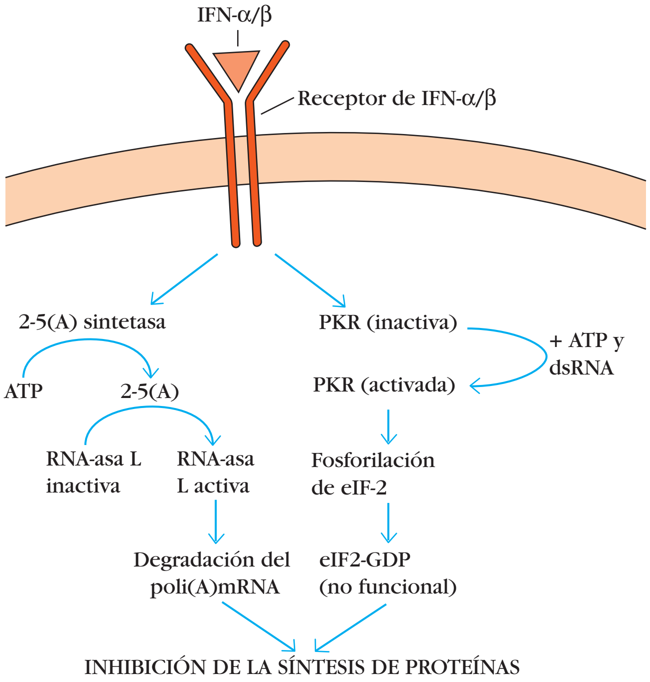


FIGURA 18-2 Inducción de la actividad antivírica por IFN-α e IFN-β. Estos interferones se fijan al receptor de IFN, que a su vez induce la síntesis tanto de sintetasa de 2′-5′-oligoadenilato (2-5(A) sintetasa) como la de cinasa de proteína dependiente de dsRNA (PKR). La acción de la 2-5(A) sintetasa da por resultado la activación de la RNA-asa L, que puede degradar el mRNA. La PKR desactiva el factor de inicio de la traducción eIF-2 al fosforilarlo. Ambas vías inhiben la síntesis de proteínas y por tanto bloquean con eficacia la multiplicación vírica.

la célula hospedadora. Por ejemplo, el virus de la gripe se fija a residuos de ácido siálico presentes sobre las glucoproteínas y los glucolípidos de la membrana celular, los rinovirus se fijan a moléculas de adhesión intercelular (ICAM) y el virus de Epstein-Barr lo hace a receptores de complemento del tipo 2 sobre las células B. Si se produce un anticuerpo contra el receptor vírico, puede bloquear la infección y a la vez prevenir la fijación de las partículas víricas a la célula hospedadora. La IgA secretoria contenida en las secreciones mucosas desempeña un papel muy importante en la defensa del hospedador contra los virus al bloquear la fijación vírica a las células epiteliales de las mucosas. La ventaja de la vacuna oral atenuada contra la poliomielitis, que se describe en el capítulo 19, consiste en que induce producción de IgA secretoria, que bloquea con eficacia la fijación del poliovirus a lo largo del tubo digestivo.

En ocasiones la neutralización vírica por anticuerpo abarca mecanismos que operan después de la fijación vírica a la célula hospedadora. Por ejemplo, los anticuerpos pueden bloquear la penetración del virus al fijarse a epítopos que son indispensables para mediar la fusión de la cubierta vírica con la membrana plasmática. Si el anticuerpo inducido es de un isotipo activador del complemento, puede sobrevenir lisis de los viriones dotados de cubierta. El anticuerpo y el complemento pueden aglutinar también las partículas víricas y funcionar como agentes opsonizadores que facilitan la fagocitosis de estas partículas mediada por los receptores de Fc o de C3b.

La inmunidad mediada por células es importante para el control y la depuración víricos

Aunque los anticuerpos son importantes para frenar la diseminación de un virus durante las fases agudas de la infección, no suelen ser capaces de eliminar el virus una vez que la infección ocurre, en particular si el virus es capaz de entrar en la fase latente en la que su DNA se integra en el DNA cromosómico del hospedador. Los mecanismos inmunitarios mediados por células adquieren importancia máxima para la defensa del hospedador una vez que tal infección se establece. En general los principales componentes de la defensa antivírica mediada por células son las células T_C $CD8^+$ y T_H1 $CD4^+$. Las células T_H1 activadas producen diversas citocinas, entre ellas IL-2, IFN-γ y TNF, que defienden al individuo contra los virus de manera directa o indirecta. El IFN-γ actúa directamente al inducir un estado antivírico en las células. La IL-2 actúa en forma indirecta al ayudar en el reclutamiento de precursores de los linfocitos T citotóxicos (CTL) en una población efectora. Tanto IL-2 como IFN-γ activan las células NK, que desempeñan una función de importancia en la defensa del hospedador durante los primeros días de muchas infecciones víricas hasta que se desarrolla una reacción de CTL específicos.

En la mayor parte de las infecciones víricas la actividad de los CTL específicos comienza tres a cuatro días después de la infección, alcanza su máximo en siete a 10 días y luego disminuye. Dentro de los siete a 10 días siguientes al inicio de la infección primaria se elimina la mayor parte de los viriones, en paralelo con el desarrollo de los CTL. Los linfocitos T citotóxicos específicos para el virus eliminan la células propias del hospedador infectadas por el virus y en consecuencia eliminan las fuentes potenciales de nuevos virus. La capacidad de los CTL de conferir protección contra el virus específico en receptores no inmunizados mediante transferencia adoptiva demuestra la función de estos linfocitos en la defensa contra los virus. La especificidad vírica de los CTL puede demostrarse también mediante transferencia adoptiva: la transferencia adoptiva de una clona de CTL específica para la cepa X del virus de la gripe protege a los ratones contra este virus pero no contra su cepa Y.

Los virus pueden evadir los mecanismos de defensa del hospedador

A pesar del tamaño restringido de su genoma, cierto número de virus codificadores de proteínas interfieren a diversos niveles en las defensas específicas o inespecíficas del hospedador. Al parecer la ventaja de estas proteínas radica en que permiten a los virus multiplicarse con más eficacia aunque estén rodeados por las defensas antivíricas del hospedador. Como se describió antes, la inducción de IFN-α e IFN-β es una defensa innata de gran importancia contra la infección vírica, pero algunos virus desarrollan estrategias para evadir la acción de estos interferones en su contra. Éstos incluyen el virus de la hepatitis C, que según se demostró supera el efecto antivírico de los interferones al bloquear o inhibir la PKR (fig. 18-2).

La inhibición de la presentación del antígeno por las células del hospedador infectadas es otro mecanismo para evadir las reacciones del hospedador que utilizan en particular los virus del herpes simple (HSV). Tanto HSV-1 como HSV-2 expresan una proteína temprana inmediata (que se sintetiza poco después de la multiplicación vírica) llamada ICP47; ésta inhibe con mucha eficacia la molécula transportadora humana necesaria para el procesamiento del antígeno (TAP; fig. 8-19). La inhibición de la TAP bloquea el envío del antígeno a los receptores de MHC clase I sobre las células infectadas por el HSV, con lo que previene la presentación del antígeno vírico a las células T $CD8^+$. Esto ocasiona el atrapamiento de moléculas MHC clase I vacías en el retículo endoplásmico y detiene con eficacia la respuesta de las células T $CD8^+$ a las células infectadas por el HSV.

El ataque contra las moléculas MHC no es único de los HSV. Está demostrado que otros virus inhiben la expresión de estas moléculas de clase I poco después de establecer la infección. Dos de los ejemplos mejor caracterizados, los adenovirus y los citomegalovirus (CMV), emplean mecanismos moleculares definidos para reducir la expresión de superficie de las moléculas MHC clase I, con lo que inhiben la presentación del antígeno a las células T $CD8^+$. Se sabe que algunos virus —CMV, virus del sarampión y VIH— reducen la concentración de moléculas MHC clase II sobre la superficie celular y por tanto bloquean la función de las células T colaboradoras antivíricas específicas de antígeno.

La destrucción de los virus mediada por anticuerpos requiere activación del complemento, que da por resultado lisis directa de la partícula vírica u opsonización y eliminación del virus por las células fagocíticas. Diversos virus cuentan con estrategias para evadir la destrucción mediada por complemento. El virus de la viruela bovina, por ejemplo, secreta una proteína que se fija al componente C4b del complemento e inhibe la vía clásica (o común) de éste; los virus del herpes simple tienen una glucoproteína que se fija al componente C3b del complemento e inhibe tanto la vía clásica como la alterna.

Diversos virus escapan al ataque inmunitario al cambiar constantemente sus antígenos. En el virus de la gripe, la variación antigénica continua ocasiona la aparición frecuente de nuevas cepas infecciosas. La ausencia de inmunidad protectora contra estas nuevas cepas emergentes conduce a epidemias repetidas de gripe. La variación antigénica entre los rinovirus, los agentes causantes del resfriado común, hace que los científicos sean incapaces de producir una vacuna eficaz contra los resfriados. En ningún caso es mayor la variación antigénica que en el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH), agente causante del SIDA. Las estimaciones sugieren que el VIH acumula mutaciones a un ritmo 65 veces más rápido que el virus de la gripe. A causa de la importancia del SIDA, en el capítulo 20 se le aborda en detalle.

Gran número de virus evaden la reacción inmunitaria al producir inmunosupresión generalizada. Entre ellos están los paramixovirus de la parotiditis, el virus del sarampión, el virus de Epstein-Barr (EBV), el citomegalovirus y el VIH. En algunos casos la inmunosupresión se debe a infección vírica directa de los linfocitos o los macrófagos. En estas condiciones el virus puede destruir de manera directa las células inmunitarias por mecanismos citolíticos o alterar su función. En otros casos la inmunosupresión es resultado de un desequilibrio de citocinas. Por ejemplo, el EBV produce una proteína, denominada BCRF1, que es homóloga de la IL-10; como esta interleucina, la proteína BCRF1 suprime la producción de citocinas por el subconjunto de células T_H1 y ocasiona descenso de las concentraciones de IL-2, TNF e IFN-γ.

La gripe es la causa de algunas de las peores pandemias de la historia

El virus de la gripe infecta las vías respiratorias superiores y centrales principales de seres humanos, caballos, aves, cerdos e incluso focas. En el período de 1918 a 1919 una pandemia (epidemia mundial) de gripe mató a entre 20 y 50 millones de personas, unas 675 000 de ellas en Estados Unidos. Algunas regiones del mundo, como Alaska y las islas del Pacífico, perdieron más de la mitad de su población durante esta pandemia. Desde entonces han ocurrido otras dos pandemias, una en 1957-1958, que causó unas 70 000 muertes en Estados Unidos, y otra en 1968-1969, con 34 000 muertes en este país. Las pandemias de gripe son causadas por nuevas cepas del virus o cepas que hacía mucho que no circulaban, de modo que la mayoría de las personas tiene escasa inmunidad a ellas. Estas cepas de gripe difieren de los subtipos de cepas ya en circulación, que causan brotes estacionales de gripe o epidemias.

Propiedades del virus de la gripe

Las partículas víricas —viriones— de la gripe tienen forma aproximadamente esférica u ovoide, con diámetro promedio de 90 a 100 nm. Los viriones están rodeados por una cubierta exterior —una bicapa lipídica que adquieren de la membrana plasmática de la célula hospedadora infectada durante el proceso de gemación—. Insertadas en la cubierta se encuentran dos glucoproteínas, **hemaglutinina (HA)** y **neuraminidasa (NA)**, que forman proyecciones radiantes visibles en las micrografías electrónicas (fig. 18-3). Las proyecciones de hemaglutinina, en forma de trímeros, se encargan de la fijación del virus a la célula hospedadora. Cada virión de la gripe tiene unas 1 000 proyecciones de hemaglutinina. El trímero de hemaglutinina se fija a los grupos de ácido siálico de las glucoproteínas y los glucolípidos de la célula hospedadora mediante una secuencia de aminoácidos conservada que hace una pequeña escotadura

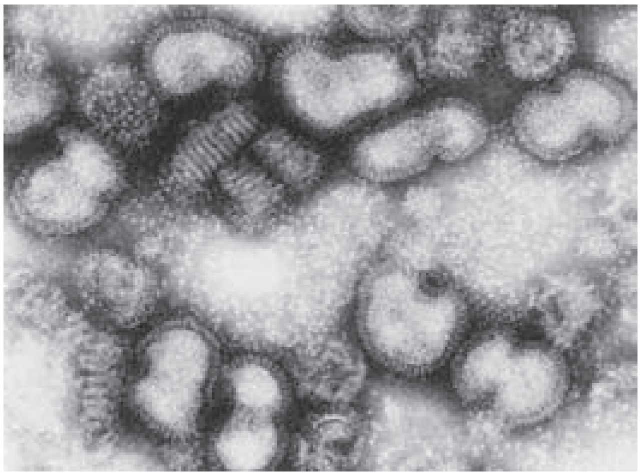


FIGURA 18-3 Micrografía electrónica del virus de la gripe que revela partículas víricas rugosas esféricas encerradas en una bicapa lipídica con espículas sobresalientes de las glucoproteínas hemaglutinina y neuraminidasa. *[Cortesía de G. Murti, Department of Virology, St. Jude Children's Research Hospital, Memphis, Tenn.]*

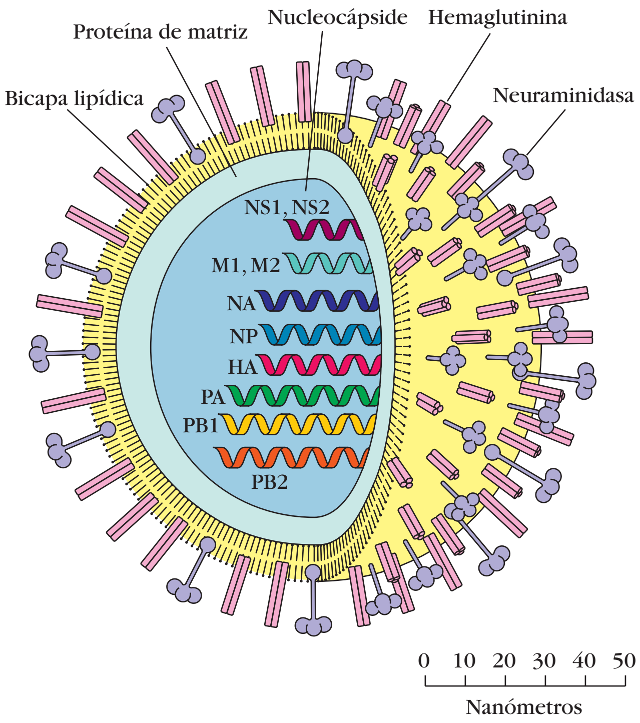


FIGURA 18-4 Esquema de la estructura del virus de la gripe. La cubierta está tachonada de espículas de neuraminidasa y hemaglutinina. Por dentro se encuentra una capa de proteína de matriz que rodea la nucleocápside, que consiste en ocho moléculas de ssRNA acompañadas de nucleoproteínas. Las ocho cadenas de RNA codifican 10 proteínas: PB1, PB2, PA, HA (hemaglutinina), NP (nucleoproteína), NA (neuraminidasa), M1, M2, NS1 y NS2.

en la molécula de hemaglutinina. La neuraminidasa, como su nombre lo indica, escinde el ácido *N*-acetilmurámico (siálico) de las glucoproteínas víricas nacientes y de la membrana de la célula hospedadora, una actividad que parece facilitar la gemación vírica desde la célula hospedadora infectada. Dentro de la cubierta se encuentra una capa interior de proteína de matriz que rodea la nucleocápside, que consiste en ocho tipos diferentes de RNA monocatenario (ssRNA) relacionados con proteína y polimerasa de RNA (fig. 18-4). Cada cadena de RNA codifica una o más proteínas de la gripe distintas.

Pueden distinguirse tres tipos básicos de gripe (A, B, y C) por las diferencias en su producción de nucleoproteínas y proteínas de matriz. La del tipo A, la más frecuente, es la causa de las grandes pandemias humanas. El tipo B produce enfermedad en el ser humano pero no en animales y ha provocado epidemias. El tipo C sólo ocasiona enfermedad leve en el ser humano. La variación antigénica en cuanto a hemaglutinina (HA) y neuraminidasa (NA) permite distinguir los subtipos del virus de la gripe del tipo A. Según la nomenclatura de la Organización Mundial de la Salud, cada cepa del virus se define por su hospedador animal de origen (especificado si es distinto del ser humano), su origen geográfico, el número de cepa, el año de su aislamiento y la descripción antigénica de sus HA y NA (cuadro 18-2). Por ejemplo, A/Sw/Iowa/15/30 (H1N1) designa el aislamiento de la cepa A 15 que se identificó en cerdos ("*swine*") en Iowa en 1930 y que tiene los subtipos antigénicos 1 de HA y NA. Nótese que las proteínas H y N son distintas desde el punto de vista antigénico en estas dos cepas. Existen 13 hemaglutininas y nueve neuraminidasas diferentes entre las cepas de virus de la gripe del tipo A. (Los tipos B y C no se clasifican por subtipos H y N.)

El aspecto distintivo del virus de la gripe es su variabilidad. El virus puede cambiar sus antígenos de superficie de manera tan completa que la reacción inmunitaria a la infección por el virus que causó la epidemia previa confiere muy poca o ninguna protección contra el que produce la epidemia subsecuente. La variación antigénica se debe sobre todo a cambios en las espículas de hemaglutinina y neuraminidasa que se proyectan desde la cubierta vírica (fig. 18-5). Dos mecanismos distintos generan la variación antigénica en HA y NA: deriva antigénica y cambio antigénico. La **deriva antigénica** implica una serie de mutaciones puntuales que ocurren de manera gradual y ocasionan cambios menores en HA y NA. El **cambio antigénico** da por resultado la aparición repentina de un nuevo subtipo de gripe en el que HA y tal vez también NA son considerablemente distintas de las del virus identificado en la epidemia previa.

CUADRO 18-2 Algunas cepas de virus de la gripe A y sus subtipos de hemaglutinina (H) y neuraminidasa (N)

Especie	Designación de las cepas víricas	Subtipo antigénico
Ser humano	A/Puerto Rico/8/34	H0N1
	A/Fort Monmouth/1/47	H1N1
	A/Singapore/1/57	H2N2
	A/Hong Kong/1/68	H3N2
	A/USSR/80/77	H1N1
	A/Brazil/11/78	H1N1
	A/Bangkok/1/79	H3N2
	A/Taiwan/1/86	H1N1
	A/Shanghai/16/89	H3N2
	A/Johannesburg/33/95	H3N2
	A/Wuhan/359/95	H3N2
	A/Texas/36/95	H1N1
	A/Hong Kong/156/97	H5N1
Cerdo (*swine*)	A/Sw/Iowa/15/30	H1N1
	A/Sw/Taiwan/70	H3N2
Caballo (*equine*)	A/Eq/Prague/1/56	H7N7
	A/Eq/Miami/1/63	H3N8*
Aves	A/Fowl/Dutch/27	H7N7
	A/Tern/South America/61	H5N3
	A/Turkey/Ontario/68	H8N4
	A/Chicken/Hong Kong/258/97	H5N1[†]

*En fechas recientes se demostró que H3N8 causa una enfermedad parecida al resfriado en perros; el cambio de especie ocurrió sin reordenamiento de genes.

[†] Ya en 2006 una peligrosa cepa aviar H5N1 nueva había infectado unas 175 personas, con mortalidad de 50%.

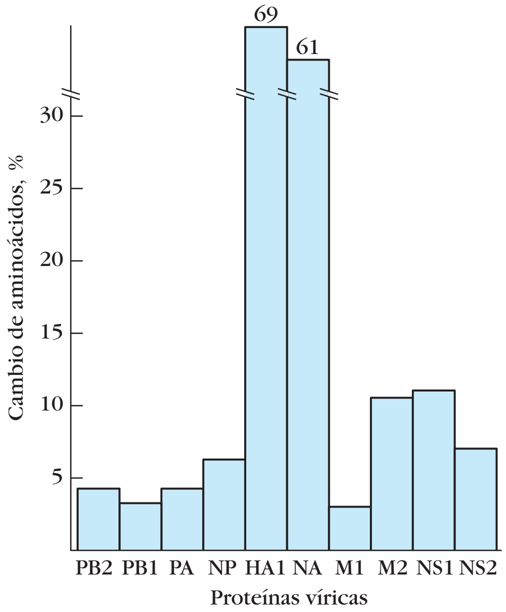


FIGURA 18-5 Variación de la secuencia de aminoácidos en 10 proteínas del virus de la gripe de dos cepas H3N2 y una cepa H1N1. Las glucoproteínas de superficie hemaglutinina (HA1) y neuraminidasa (NA) muestran variación importante de la secuencia; en contraste las secuencias de las proteínas víricas internas, como las proteínas de matriz (M1 y M2) y las nucleoproteínas (NP), están casi totalmente conservadas. *[Adaptada de G. G. Brownlee, 1986, en* Options for the Control of Influenza, *Alan R. Liss, New York.]*

Variación en cepas de gripe epidémica

El virus de la gripe humana se aisló por primera vez en 1934; este virus recibió la designación de subtipo H0N1. El subtipo H0N1 persistió hasta 1947, año en el que un cambio antigénico mayor generó un nuevo subtipo, H1N1, que ocupó el sitio del subtipo previo y prevaleció en el mundo hasta 1957, cuando apareció el H2N2. El subtipo H2N2 prevaleció durante el siguiente decenio y en 1968 lo reemplazó el H3N2. El cambio antigénico de 1977 fue el origen de la reemergencia del subtipo H1N1. La modificación antigénica más reciente, en 1989, tuvo como consecuencia la reaparición del subtipo H3N2, que se mantuvo como cepa dominante durante varios años. Sin embargo, una cepa H1N1 volvió a aparecer en Texas en 1995, por lo que las vacunas de la gripe actuales contienen tanto la cepa H3N2 como la H1N1. Con cada cambio antigénico la hemaglutinina y la neuraminidasa experimentan modificaciones secuenciales mayores que producen variaciones antigénicas de primera importancia para las que el sistema inmunitario carece de memoria. Por tanto, cada cambio antigénico encuentra a la población sin preparación inmunitaria y causa brotes importantes de gripe que a veces alcanzan proporciones pandémicas.

Entre los cambios antigénicos causantes de pandemias, el virus de la gripe experimenta deriva antigénica, generadora de variaciones antigénicas menores, que explican las diferencias de cepas dentro de un subtipo. La reacción inmunitaria contribuye al surgimiento de estas diferentes cepas de virus de la gripe. Conforme los individuos infectados por una cepa determinada de este virus montan una inmunorreacción eficaz, esta cepa se elimina. Sin embargo, la acumulación de mutaciones puntuales altera lo suficiente la antigenicidad de algunas variantes para que sean capaces de escapar a la eliminación inmunitaria (fig. 18-6a). Estas variantes se convierten en nuevas cepas de la gripe causantes de otros ciclos epidémicos locales. La función del anticuerpo en esta selección inmunitaria puede demostrarse en el laboratorio mediante la mezcla de una cepa de la gripe con un anticuerpo monoclonal específico para esa cepa y el posterior cultivo del virus en células. El anticuerpo neutraliza todas las partículas víricas, y sólo aquéllas en que las mutaciones alteraron la antigenicidad escapan a la neutralización y son capaces de continuar el proceso infeccioso. Una nueva cepa de gripe emerge tras un tiempo breve en cultivo.

Se cree que el cambio antigénico ocurre mediante redistribución genética (intercambio) entre los viriones de la gripe y los de diversos animales, inclusive caballo, cerdo y pato (fig. 18-6b). El hecho de que el virus de la gripe contenga ocho cadenas separadas de ssRNA posibilita el intercambio de estas cadenas de RNA entre los viriones humanos y los de los animales dentro de una misma célula infectada por ambos virus. En 1971 se obtuvieron pruebas del intercambio genético entre los virus A de seres humanos y cerdos domésticos. Después de infectar un cerdo de manera simultánea con los virus de la gripe humana Hong Kong (H3N2) y de la gripe porcina (H1N1), los investigadores recuperaron viriones que expresaban la constitución H3N1. En algunos casos un aparente cambio antigénico puede representar la reaparición de una cepa previa que se mantuvo oculta durante varios decenios. En mayo de 1977 emergió una cepa de la gripe, A/USSR/77 (H1N1), que según se demostró era idéntica a la cepa que ocasionó una epidemia 27 años

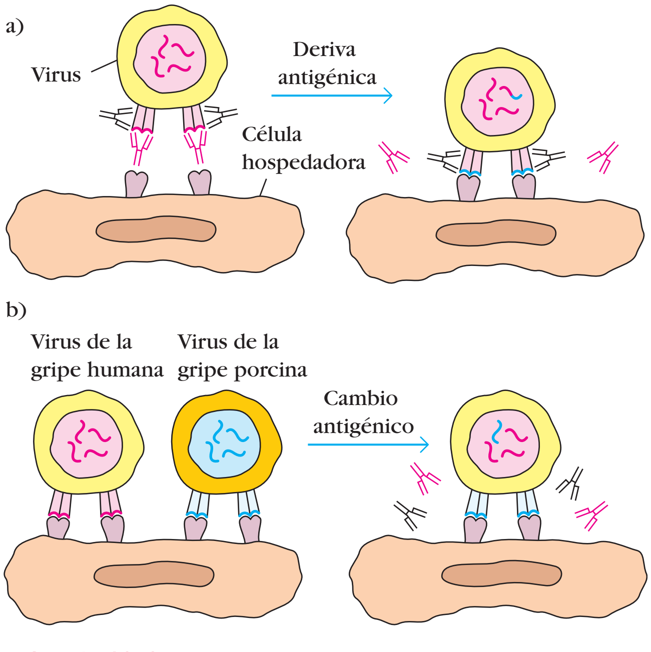


FIGURA 18-6 Dos mecanismos generan variaciones en los antígenos de superficie del virus de la gripe. a) En la deriva antigénica, la acumulación de mutaciones puntuales culmina en la producción de una proteína variante que el anticuerpo contra el antígeno original no reconoce. b) El cambio antigénico puede ocurrir por redistribución de todo un ssRNA entre los viriones humanos y animales que infectan la misma célula. Sólo se ilustran cuatro de las ocho cadenas de RNA.

antes. Es posible que el virus se preservara durante años en estado de congelación o en un reservorio animal. Cuando ocurre una reaparición de este tipo, los antígenos HA y NA expresados en realidad no son nuevos; sin embargo, el sistema inmunitario de cualquier persona que no se expuso con anterioridad a esa cepa (p. ej., personas menores de 27 años de edad durante la epidemia de 1977) la identifica como si fuera nueva porque la población susceptible no posee células de memoria para estos subtipos antigénicos. Por lo anterior, desde la perspectiva inmunitaria, la reaparición de una vieja cepa de virus de la gripe A puede tener el mismo efecto que un cambio antigénico que genera un subtipo nuevo. En algunos casos, un virus puede saltar de una especie a otra con escaso cambio genético. En fechas recientes, la cepa equina H3N8 causó una epidemia de gripe en perros de carreras. El virus canino era 96% idéntico al que se sabe que ha estado presente en caballos durante unos 30 años. Hasta ahora no se han detectado infecciones por H3N8 en seres humanos, pero es necesaria una vigilancia más cuidadosa de quienes entran en contacto con perros infectados.

La reacción humoral a la gripe es específica de cepa

Durante una infección de gripe se produce anticuerpo humoral específico para la molécula de HA. Este anticuerpo confiere protección contra la gripe, pero su efecto es específico de cepa y la deriva antigénica lo supera con facilidad. La deriva antigénica en la molécula de HA da por resultado sustituciones de aminoácidos en diversos dominios antigénicos del extremo distal de la molécula (fig. 18-7). Dos de estos dominios están en cualquiera de los lados del surco de fijación de ácido siálico conservado, que es necesario para fijar los viriones a las células blanco. Los anticuerpos séricos específicos para estas dos regiones son importantes en el bloqueo inicial de la infectividad vírica. Los títulos de estos anticuerpos son máximos unos cuantos días después de la infección y luego disminuyen durante los siguientes seis meses; entonces los títulos forman una meseta y permanecen bastante estables durante varios años. Ese anticuerpo no parece necesario para la recuperación de la gripe puesto que los pacientes con agammaglobulinemia se recuperan de esta enfermedad. Más bien se cree que el anticuerpo sérico tiene un papel importante en la resistencia a la reinfección por la misma cepa. Cuando las concentraciones séricas de anticuerpo contra una molécula de HA determinada son altas, tanto los ratones como los seres humanos son resistentes a la infección por viriones que expresan esa molécula. Si los ratones se infectan con el virus de la gripe y se les suprime de manera experimental la producción de anticuerpos, se recuperan de la infección pero pueden reinfectarse con la misma cepa vírica. Además de las reacciones humorales los linfocitos T citotóxicos (CTL) pueden desempeñar una función importante en las inmunorreacciones a la gripe.

La cepa aviar H5N1 representa una amenaza de pandemia

Desde 1997 se han observado brotes importantes de gripe en aves con transmisión ocasional a seres humanos, principalmente en el sudeste asiático. Hasta marzo de 2006 se habían confirmado 175 casos de infección de seres humanos por la cepa de gripe aviar H5N1, con mortalidad aproximada de 50% (93 decesos). En casi todos los casos la fuente de infección fue el contacto con aves domésticas o silvestres, y en la actualidad no existen indicios de transmisión espontánea a seres humanos. Sin embargo, una redistribución de genes entre una cepa humana epidémica y una cepa aviar letal podría causar una pandemia grave. La amenaza que tal suceso representaría es puesta de relieve por el hecho de que las cepas aviares son resistentes a algunos de los fármacos usados para aliviar los síntomas y aminorar la gravedad del trastorno.

En fecha reciente fue posible reconstruir el virus que causó la pandemia de 1918 usando datos de secuencia obtenidos de virus presentes en tejidos de víctimas de ese brote, principalmente recuperados de cuerpos que fueron preservados por el permafrost en Alaska. El análisis genómico indica que el virus de 1918 provino de cepas aviares, y el virus reconstruido es en la actualidad objeto de intenso estudio, que se concentra en los factores que contribuyen a su extrema letalidad. Estas investigaciones podrían tener aplicación a la amenaza actual de la cepa H5N1.

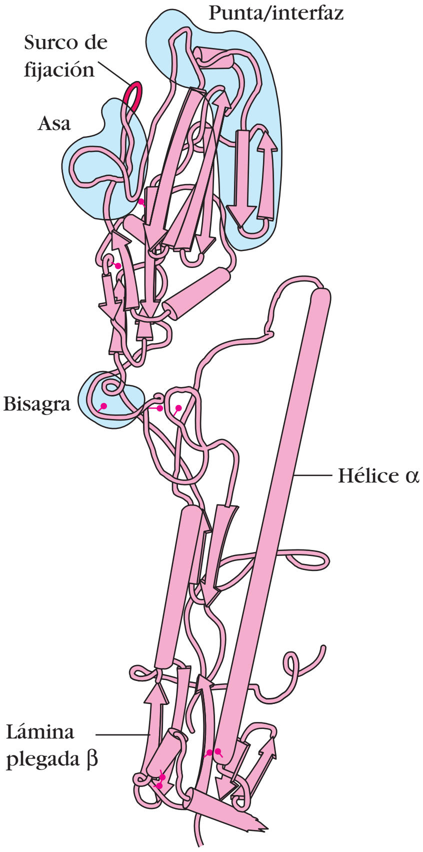


FIGURA 18-7 Hemaglutinina. El ácido siálico de la célula hospedadora interactúa con el surco de fijación, que se encuentra fijo por regiones —designadas de asa y de punta/interfaz— en las que predomina la deriva antigénica (zonas azules). Los anticuerpos contra estas regiones tienen importancia en el bloqueo de la infección vírica. Los cambios continuos de los aminoácidos en estas regiones permiten al virus de la gripe evadir la reacción de anticuerpo. Los puntos rojos pequeños representan residuos que muestran un alto grado de variación entre las cepas víricas. *[Adaptada de D. C. Wiley et al., 1981,* Nature ***289:****373.*]

Infecciones bacterianas

La inmunidad contra las infecciones bacterianas se logra mediante anticuerpos, a menos que las bacterias sean capaces de proliferar dentro de las células, en cuyo caso la hipersensibilidad tardía adquiere gran importancia. Las bacterias entran en el cuerpo por diversas rutas naturales (p. ej., vías respiratorias, tubo digestivo y vías genitourinarias) o por sitios que en condiciones normales son inaccesibles pero que se abren como consecuencia de roturas en las mucosas o la piel. Diversos niveles de defensa del hospedador se desencadenan según el número de microorganismos que ingresan y su virulencia. Si el tamaño del inóculo y la virulencia son bajos, los fagocitos tisulares localizados en el sitio pueden ser capaces de eliminar las bacterias con una defensa inespecífica innata. Los inóculos de mayor tamaño y los microorganismos con mayor virulencia tienden a inducir una reacción inmunitaria específica adaptativa.

Las reacciones inmunitarias a las bacterias extracelulares e intracelulares pueden diferir

La infección por bacterias extracelulares induce producción de anticuerpos humorales, que por lo general las células plasmáticas secretan en los ganglios linfáticos regionales y la submucosa de las vías respiratorias y digestiva. La reacción inmunitaria humoral es la principal protección contra las bacterias extracelulares. Los anticuerpos actúan de diversas maneras para proteger al hospedador contra los microorganismos invasores, incluida la remoción de bacterias y la desactivación de sus toxinas (fig. 18-8). Las bacterias extracelulares pueden ser patógenas porque inducen una reacción inflamatoria localizada o porque producen toxinas. La toxinas, endotoxinas o exotoxinas, pueden ser citotóxicas pero también es posible que causen patogénesis de otras maneras. Un ejemplo excelente de lo anterior es la toxina producida por el agente de la difteria, la cual ejerce un efecto tóxico sobre la célula al bloquear su síntesis de proteínas. Las endotoxinas, como los lipopolisacáridos (LPS), suelen ser componentes de las paredes celulares bacterianas, en tanto que las exotoxinas, como la toxina diftérica, son secretadas por las bacterias.

El anticuerpo que se fija contra antígenos accesibles sobre la superficie de una bacteria puede, junto con el componente C3b del complemento, actuar como opsonina que incrementa la fagocitosis y por tanto la depuración de dicha bacteria (fig. 18-8). En el caso de algunas bacterias —sobre todo las gramnegativas—, la activación del complemento puede producir directamente lisis de éstas. La activación del sistema del complemento mediada por anticuerpo también puede inducir producción localizada de moléculas efectoras inmunitarias que ayudan a desarrollar una reacción inflamatoria amplificada y más eficaz. Por ejemplo, los productos del desdoblamiento del complemento C3a y C5a actúan como anafilatoxinas, e inducen desgranulación de los mastocitos locales y en consecuencia vasodilatación y extravasación de linfocitos y neutrófilos desde la sangre hacia los espacios tisulares (fig. 18-8). Otros productos del desdoblamiento del complemento funcionan como factores quimiotácticos para neutrófilos y macrófagos, y de este modo contribuyen a la acumulación de células fagocíticas en el sitio de la infección. El anticuerpo contra una toxina bacteriana puede fijarse a ésta y neutralizarla; después las células fagocíticas depuran los complejos anticuerpo-toxina en la misma forma que cualquier otro complejo antígeno-anticuerpo.

Aunque la inmunidad innata no es muy eficaz contra las bacterias patógenas intracelulares, éstas pueden activar las células asesinas naturales (NK), que a su vez constituyen una línea de defensa temprana contra estos microorganismos. Las infecciones bacterianas intracelulares tienden a inducir una reacción inmunitaria mediada por células, de manera específica hipersensibilidad tardía. En esta reacción son importantes las citocinas secretadas por las células T CD4$^+$, en especial IFN-γ, que activa los macrófagos para que maten con más eficacia los microorganismos patógenos fagocitados (fig. 14-15).

Las bacterias pueden evadir con eficacia los mecanismos de defensa del hospedador

Las etapas primarias de la infección bacteriana son cuatro:

- Fijación a la célula hospedadora
- Proliferación
- Invasión del tejido del hospedador
- Lesión de la célula hospedadora inducida por toxina

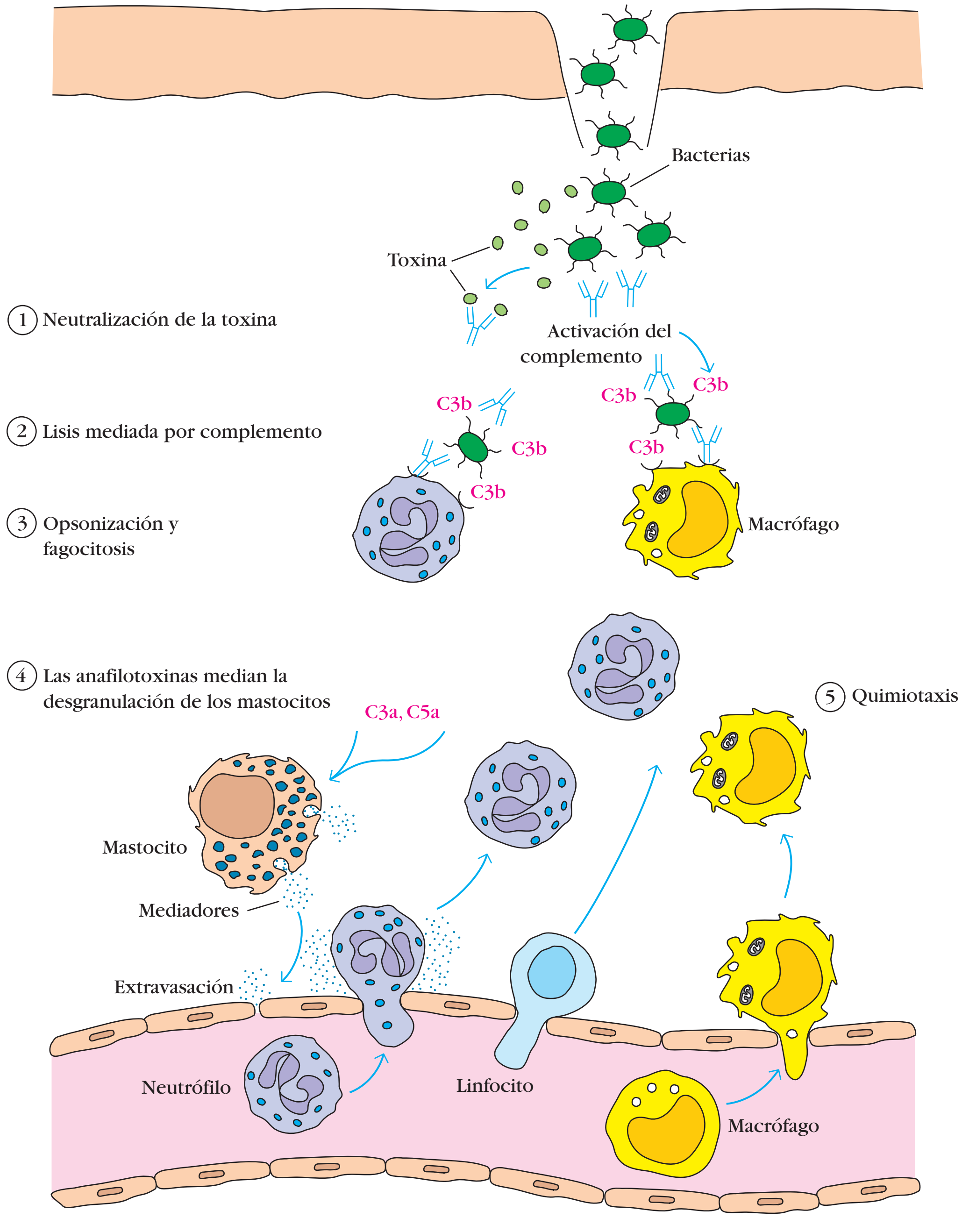
Los mecanismos de defensa del hospedador actúan en cada una de estas etapas y muchas bacterias desarrollan modos de librarse de algunos de ellos (cuadro 18-3).

Algunas bacterias cuentan con estructuras o moléculas de superficie que incrementan su capacidad de adherirse a las células hospedadoras. Diversas bacterias gramnegativas, por ejemplo, poseen pelos (proyecciones largas) que les permiten adherirse a las mucosas intestinal o de las vías genitourinarias (fig. 18-9). Otras, como *Bordetella pertussis*, secretan moléculas de adhesión que se fijan tanto a su propia pared como a las células epiteliales ciliadas de las vías respiratorias superiores.

Los anticuerpos IgA secretores contra estas estructuras bacterianas pueden bloquear la fijación de los microorganismos a las células de los epitelios mucosos y constituir la principal defensa del hospedador contra esta adhesión. Sin embargo, algunas bacterias (p. ej., *Neisseria gonorrhoeae, Haemophilus influenzae* y *Neisseria meningitidis*) evaden la reacción de IgA al secretar proteasas que escinden esta inmunoglobulina secretoria a nivel de la región de bisagra; los fragmentos Fab y Fc resultantes tienen una vida media acortada en las secreciones mucosas y no son capaces de aglutinar microorganismos.

Algunas bacterias evaden la reacción de IgA del hospedador mediante el cambio de estos antígenos de superficie. En el caso de *N. gonorrhoeae*, por ejemplo, la pilina, una proteína componente de las fimbrias o pelos, tiene una estructura muy variable. La variación en la secuencia de aminoácidos de la pilina se debe a redistribuciones génicas de su secuencia de codificación. El locus de la pilina consiste en uno o dos genes expresados y 10 a 20 genes silenciosos. Cada gen se reordena en seis regiones denominadas *minicasetes* (o miniestuches). La variación de esta proteína ocurre por un proceso de conversión génica en el que uno o más minicasetes de los genes silenciosos reemplazan a un minicasete del gen de expresión. Este proceso genera una enorme variación antigénica, que puede contribuir a la patogenicidad de *N. gonorrhoeae* al incrementar la probabilidad de que los pelos expresados se fijen con firmeza a las células epiteliales. Además, los cambios continuos de la secuencia de la pilina permiten al microorganismo evadir la neutralización por la IgA.

FIGURA 18-8 PARA VISUALIZACIÓN DE CONCEPTOS


Bacterias
Toxina
① Neutralización de la toxina
Activación del complemento
C3b
C3b
C3b
C3b
C3b
C3b
② Lisis mediada por complemento
③ Opsonización y fagocitosis
Macrófago
④ Las anafilotoxinas median la desgranulación de los mastocitos
C3a, C5a
⑤ Quimiotaxis
Mastocito
Mediadores
Extravasación
Neutrófilo
Linfocito
Macrófago

Mecanismos mediados por anticuerpo para combatir la infección por bacterias extracelulares. 1) el anticuerpo neutraliza las toxinas bacterianas. 2) la activación del complemento sobre las superficies bacterianas produce lisis de las bacterias mediada por complemento. 3) el anticuerpo y el producto del desdoblamiento del complemento C3b se fijan a las bacterias y funcionan como opsoninas que incrementan su fagocitosis. 4) C3a y C5a, generados por la activación del complemento iniciada por anticuerpo, inducen la desgranulación de los mastocitos locales, que liberan sustancias mediadoras de la vasodilatación y la extravasación de linfocitos y neutrófilos. 5) otros productos del desdoblamiento del complemento son quimiotácticos para neutrófilos y macrófagos.

CUADRO 18-3 Reacciones inmunitarias del hospedador a la infección bacteriana y mecanismos de evasión de las bacterias

Proceso infeccioso	Defensas del hospedador	Mecanismos de evasión de las bacterias
Fijación a la célula hospedadora	Bloqueo de la fijación por anticuerpos IgA secretorios	Secreción de proteasas que escinden los dímeros de IgA secretoria (*Neisseria meningitidis, N. gonorrhoeae, Haemophilus influenzae*) Variación antigénica de las estructuras de fijación (pelos de *N. gonorrhoeae*)
Proliferación	Fagocitosis (opsonización mediada por anticuerpo y C3b)	Producción de estructuras de superficie (cápsula de polisacárido, proteína M, cubierta de fibrina) que inhiben las células fagocíticas Mecanismos para la supervivencia dentro de las células fagocíticas Inducción de apoptosis en los macrófagos (*Shigella flexneri*)
	Lisis mediada por complemento y reacción inflamatoria localizada	Resistencia generalizada de las bacterias grampositivas a la lisis mediada por complemento Prevención de la inserción de complejos de ataque de membrana por la cadena lateral larga del LPS de la pared celular (algunas bacterias gramnegativas)
Invasión de los tejidos del hospedador	Aglutinación mediada por anticuerpo	Secreción de elastasa que desactiva los componentes C3a y C5a (*Pseudomonas*)
Lesión de las células hospedadoras inducida por toxinas	Neutralización de la toxina por anticuerpo	Secreción de hialuronidasa, que intensifica la invasividad bacteriana

Algunas bacterias poseen estructuras de superficie que inhiben la fagocitosis. Un ejemplo clásico es *Streptococcus pneumoniae*, cuya cápsula de polisacárido evita la fagocitosis con gran eficacia. Los 84 serotipos de *S. pneumoniae* difieren entre sí por polisacáridos capsulares definidos, y durante la infección el hospedador produce anticuerpo contra el serotipo infectante. Este anticuerpo lo protege contra la reinfección por el mismo serotipo, pero no contra la infección por un serotipo distinto. De este modo *S. pneumoniae* puede causar enfermedad muchas veces en el mismo individuo. En otras bacterias, como *Streptococcus pyogenes*, una proyección proteínica de superficie llamada proteína M inhibe la fagocitosis. Algunos estafilococos patógenos son capaces de ensamblar una cubierta protectora contra las proteínas del hospedador. Estas bacterias secretan una enzima coagulasa que precipita una capa de fibrina a su alrededor la cual las protege contra las células fagocíticas.

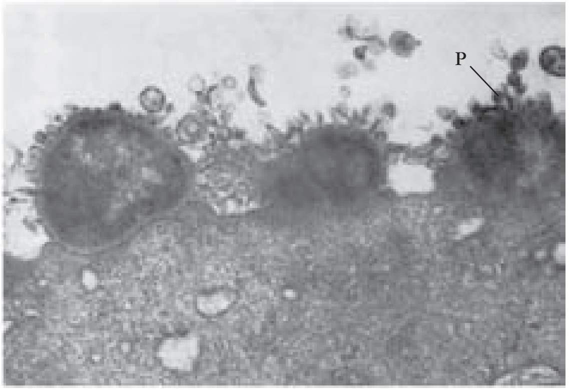


FIGURA 18-9 Micrografía electrónica de *Neisseria gonorrhoeae* adhiriéndose a células epiteliales de la uretra. Los pelos (P) se extienden desde la superficie del gonococo y median su fijación. *[De M. E. Ward y P. J. Watt, 1972,* J. Inf. Dis. ***126:****601.]*

Los mecanismos que interfieren en la acción del sistema del complemento ayudan a otras bacterias a sobrevivir. En algunas especies gramnegativas, por ejemplo, largas cadenas laterales de la parte lipídica A del polisacárido central de la pared celular ayudan a resistir la lisis mediada por complemento. *Pseudomonas* secreta una enzima, elastasa, que desactiva las anafilatoxinas C3a y C5a, y por tanto disminuye la reacción inflamatoria localizada.

Diversas bacterias escapan a los mecanismos de defensa del hospedador por su capacidad de sobrevivir dentro de las células fagocíticas. Algunas, como *Listeria monocytogenes*, lo hacen al escapar desde el fagolisosoma hacia el citoplasma, que es un ambiente más favorable para su desarrollo. Otras, como *Mycobacterium avium*, bloquean la fusión lisosómica con el fagolisosoma; por último, algunas micobacterias son resistentes al ataque oxidativo que ocurre dentro del fagolisosoma.

Las reacciones inmunitarias pueden contribuir a la patogénesis bacteriana

En algunas infecciones bacterianas, los síntomas de la enfermedad no se deben al propio patógeno bacteriano sino a la reacción inmunitaria contra él. Como se describió en el capítulo 12, la sobreproducción de citocinas que el microorganismo estimula es la causa de los síntomas del choque séptico bacteriano, la intoxicación alimentaria y el síndrome de choque tóxico. Por ejemplo, las endotoxinas de la pared de algunas bacterias gramnegativas activan los macrófagos, con liberación subsecuente de concentraciones elevadas de IL-1 y TNF-α, que pueden causar choque séptico. En la intoxicación por alimentos que contienen toxina de estafilococo y en el síndrome de choque tóxico, las exotoxinas producidas por estos microorganismos funcionan como superantígenos, que pueden activar todas las células T que expresan receptores de superficie con un dominio V_β particular (cuadro 10-3). La resultante sobreproducción de citocinas por las células T_H ocasiona muchos de los síntomas de estas enfermedades.

La capacidad de algunas bacterias de sobrevivir dentro de las células infectadas puede causar activación antigénica crónica de células T CD4$^+$, con destrucción tisular por una reacción mediada por células con las características de una reacción de hipersensibilidad tardía (cap. 15). Es posible que las citocinas secretadas por estas células T CD4$^+$ produzcan acumulación extensa y activación de los macrófagos, cuyo resultado es la formación de un **granuloma**. Las concentraciones localizadas de enzimas lisosómicas en estos granulomas pueden originar necrosis tisular extensa. Gran parte de la lesión tisular que se observa con *M. tuberculosis* se debe a una reacción inmunitaria mediada por células.

La difteria (*Corynebacterium diphtheriae*) puede controlarse mediante inmunización con toxoide desactivado

La difteria es el ejemplo clásico de enfermedad bacteriana causada por una exotoxina secretada y contra la cual puede inducirse inmunidad mediante inmunización con un **toxoide** desactivado. El agente causal, un microorganismo grampositivo con forma de bastoncillo denominado *Corynebacterium diphtheriae*, fue descrito por primera vez por Theodor Klebs en 1883; un año después Friedrich Loeffler demostró que producía difteria en cobayos y conejos. Las necropsias de los animales infectados revelaron que, aunque la proliferación bacteriana se limitaba al sitio de la inoculación, ocurría lesión diseminada a diversos órganos, entre ellos corazón, hígado y riñones. Esta observación permitió a Loeffler especular que las manifestaciones neurológicas y cardíacas de la enfermedad se debían a una sustancia tóxica elaborada por el microorganismo.

La hipótesis de Loeffler fue corroborada en 1888, cuando Roux y Yersin produjeron la enfermedad en animales a los que inyectaron un filtrado estéril de un cultivo de *C. diphtheriae.* Dos años más tarde von Behring demostró que un antisuero contra la toxina podía prevenir la muerte de los animales infectados. Elaboró un toxoide mediante tratamiento de la toxina con tricloruro de yodo y demostró que podía inducir anticuerpos en los animales. Sin embargo, el toxoide aún era demasiado tóxico y por ello inadecuado para administrarse a seres humanos. Este problema fue resuelto en 1923 por Gaston Ramon, quien descubrió que la exposición de la toxina a calor y formalina la volvía atóxica pero no destruía su antigenicidad. Pruebas clínicas mostraron que el toxoide tratado con formaldehído confería un nivel elevado de protección contra la difteria.

Los casos de difteria disminuyeron con rapidez conforme las inmunizaciones con el toxoide aumentaron. En el decenio de 1920 se produjeron unos 200 casos de difteria por cada 100 000 habitantes en Estados Unidos. En 2004, los Centers for Disease Control no informaron de ningún caso de difteria en todo el país. Se han observado brotes esporádicos de este trastorno en regiones en que se permita que venza la cobertura de las vacunaciones.

La infección natural por *C. diphtheriae* ocurre sólo en seres humanos. La enfermedad se disemina de un individuo a otro mediante gotitas de secreciones de las vías respiratorias transportadas por el aire. El microorganismo coloniza la nasofaringe y se mantiene en las capas superficiales de la mucosa respiratoria. El desarrollo de la propia bacteria causa poca lesión tisular, y sólo se produce una lesión inflamatoria leve. La virulencia de este microorganismo se debe por completo a su potente exotoxina. Ésta destruye el tejido subyacente y genera la formación de una membrana fibrinosa resistente (“seudomembrana”) compuesta por fibrina, leucocitos y células epiteliales respiratorias muertas. La membrana puede ocasionar sofocación. Asimismo la exotoxina causa manifestaciones sistémicas diseminadas. Son frecuentes las lesiones miocárdica (a menudo con insuficiencia cardíaca congestiva) y neurológica (que varía entre debilidad leve y parálisis completa) graves.

La exotoxina que produce los síntomas de la difteria es codificada por el gen *tox*, transportado por el fago β. Dentro de ciertas cepas de *C. diphtheriae*, el fago β puede existir en estado de **lisogenia**, en el cual el DNA del profago β persiste dentro de la célula bacteriana. Sólo las cepas portadoras del fago β lisógeno son capaces de producir la exotoxina. La exotoxina de la difteria contiene dos cadenas unidas por disulfuro, una cadena de enlace y una cadena de toxina. La cadena de enlace interactúa con receptores gangliósido sobre las células susceptibles, lo que facilita la internalización de la exotoxina en ellas. La toxicidad es resultado del efecto inhibidor de la cadena de toxina sobre la síntesis de proteínas. La exotoxina de la difteria es en extremo potente; está demostrado que una sola molécula mata una célula. La remoción de la cadena de enlace previene la entrada de la exotoxina en la célula y en consecuencia la vuelve atóxica.

En la actualidad el toxoide diftérico se elabora tratando la toxina de *C. diphtheriae* con formaldehído. La reacción con el formaldehído forma enlaces cruzados con la toxina, lo que ocasiona la pérdida irreversible de la toxicidad al tiempo que incrementa su antigenicidad. El toxoide se administra junto con toxoide tetánico y *Bordetella pertussis* acelular en una vacuna combinada que los niños reciben por primera vez entre las seis y las ocho semanas de edad (cuadro 19-3). La inmunización con el toxoide induce la producción de anticuerpo (antitoxina), que puede fijarse a la toxina y neutralizar su actividad. Como las concentraciones de antitoxina disminuyen con lentitud con el transcurso del tiempo, se recomiendan dosis de refuerzo a intervalos de 10 años para conservar las concentraciones de antitoxina dentro del intervalo protector.

La tuberculosis (*Mycobacterium tuberculosis*) es controlada primordialmente por células T CD4$^+$

La tuberculosis es la causa principal de muerte en el mundo por un agente infeccioso único, pues mata a unos 1.5 millones de personas cada año. Alrededor de un tercio de la población mundial está infectada por el microorganismo causante (*M. tuberculosis*) y se encuentra en riesgo de desarrollar la enfermedad. Aunque se consideró que la tuberculosis estaba erradicada como problema de salud pública en Estados Unidos, reapareció a principios del decenio de 1990, sobre todo en regiones en que los niveles de infección por VIH son altos. En 2005 se diagnosticó tuberculosis en unos 15 000 individuos en dicho país.

Aunque diversas especies de *Mycobacterium* pueden ocasionar esta enfermedad, *M. tuberculosis* es el agente causante principal. Este microorganismo se disemina con facilidad y por lo general la infección pulmonar es resultado de la inhalación de gotitas de secreciones respiratorias que contienen unos cuantos bacilos. Los macrófagos ingieren los bacilos inhalados, que son capaces de sobrevivir y multiplicarse dentro de estas células al inhibir la formación de fagolisosomas. Cuando los macrófagos infectados experimentan lisis, como sucede en última instancia,

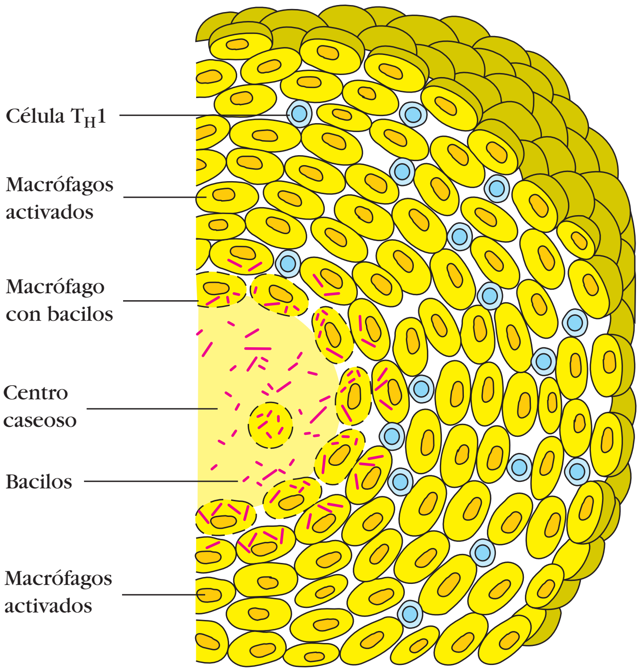


FIGURA 18-10 Tubérculo formado en la tuberculosis pulmonar. *[Modificada de A. M. Dannenberg, 1993,* Hospital Practice *(Jan. 15): 51.]*

liberan grandes cantidades de bacilos. Una reacción mediada por células T $CD4^+$, que se requiere para la inmunidad contra la tuberculosis, parece ser la causa de gran parte de la lesión tisular en esta enfermedad. La actividad de las células T $CD4^+$ es la base de la prueba cutánea de la tuberculina con el derivado proteínico purificado (PPD) de *M. tuberculosis* (cap. 14).

Alrededor de 90% de las personas que se infectan con *M. tuberculosis* manifiesta el patrón clínico más frecuente, denominado tuberculosis pulmonar. En este patrón las células T $CD4^+$ se activan dentro de las dos a seis semanas siguientes a la infección e inducen infiltración de grandes números de macrófagos activados. Estas células tabican el microorganismo dentro de una lesión granulomatosa denominada tubérculo (fig. 18-10). El tubérculo consiste en unos cuantos linfocitos pequeños y una acumulación compacta de macrófagos activados, que a veces se diferencian hasta células epitelioides o células gigantes multinucleadas. La activación masiva de macrófagos que ocurre dentro de los tubérculos suele ocasionar la liberación de concentraciones elevadas de enzimas líticas. Estas enzimas destruyen las células sanas vecinas, lo que da por resultado regiones circulares de tejido necrótico que por último se convierten en lesiones de consistencia caseosa (como el queso) (fig. 18-10). Al cicatrizar estas lesiones caseosas se calcifican y se tornan visibles en las radiografías, en las que se denominan complejos de Ghon.

Como los macrófagos activados suprimen la proliferación de los bacilos fagocitados, la infección se frena. Las citocinas producidas por las células T $CD4^+$ (subconjunto T_H1) desempeñan un papel importante en la reacción al activar los macrófagos para que sean capaces de matar los bacilos o de inhibir su proliferación. Se demostró que el IFN-γ participa en la respuesta inmunitaria a las micobacterias en ratones privados del gen productor de este interferón. Estos ratones murieron cuando se infectaron con una cepa atenuada de micobacterias (BCG), en tanto que los normales que tenían IFN-γ sobrevivieron.

Estudios recientes revelan concentraciones elevadas de IL-12 en los derrames pleurales de pacientes tuberculosos. Estas altas concentraciones, producidas por los macrófagos activados, no resultan sorprendentes si se considera la función decisiva de esta interleucina para estimular las reacciones mediadas por células T_H1 (fig. 12-12). La IL-12 incrementa la resistencia a la enfermedad en modelos murinos de tuberculosis. Esta interleucina no sólo estimula el desarrollo de células T_H1, sino que además puede contribuir a la resistencia al inducir la producción de quimiocinas que atraen macrófagos al sitio infectado. Cuando la IL-12 es neutralizada por un anticuerpo específico contra ella, la formación de granuloma en los ratones tuberculosos se bloquea.

La reacción inmunitaria mediada por células T $CD4^+$ que la mayoría de las personas expuestas a *M. tuberculosis* monta controla la infección y después protege contra la reinfección. Sin embargo, alrededor de 10% de los individuos infectados por este microorganismo manifiesta un patrón clínico distinto: la enfermedad avanza hasta tuberculosis pulmonar o extrapulmonar crónica. Este avance puede ocurrir años después de la infección primaria. Bajo este patrón clínico, la acumulación de grandes concentraciones de antígenos micobacterianos dentro de los tubérculos produce activación crónica extensa de células T $CD4^+$ y activación consecuente de los macrófagos. Las resultantes concentraciones elevadas de enzimas líticas hacen que las lesiones caseosas necróticas se licuen y conviertan en un medio rico que permite a los bacilos de la tuberculosis proliferar fuera de las células. Por último, las lesiones se rompen y los bacilos se diseminan por el pulmón e inclusive por la sangre y los vasos linfáticos hacia cavidad pleural, huesos, vías urogenitales, meninges, peritoneo o piel.

La tuberculosis se trata con diversos fármacos en combinación, como isoniacida, rifampicina, estreptomicina, pirazinamida y etambutol. El tratamiento combinado con isoniacida y rifampicina tiene eficacia particular. Sin embargo, como la proliferación intracelular de *M. tuberculosis* dificulta que los fármacos lleguen a estos bacilos, el tratamiento debe continuarse durante por lo menos nueve meses para erradicarlos. Algunos pacientes tuberculosos no presentan ningún síntoma clínico, y entre los sintomáticos hay quienes empiezan a sentirse mejor dos a cuatro semanas después de iniciar el tratamiento. Para evitar los efectos adversos que suelen acompañar al tratamiento antibiótico ordinario, muchos pacientes dejan de tomar las medicaciones una vez que se sienten mejor y mucho antes de terminar el período terapéutico recomendado. Como es posible que el tratamiento más breve no erradique los microorganismos con cierta resistencia a los antibióticos, existe el riesgo de que aparezca una cepa resistente a muchos fármacos. Es indudable que la falta de cumplimiento de los regímenes terapéuticos requeridos, uno de los aspectos más difíciles de resolver entre el gran número de casos de tuberculosis actuales, pone en peligro los esfuerzos dedicados a frenar la diseminación de esta enfermedad. En ambientes en que esto es factible, el tratamiento con observación directa (DOT, del inglés *directly observed therapy*) asegura el cumplimiento del prolongado régimen medicamentoso.

En la actualidad, la única vacuna para prevenir la infección por *M. tuberculosis* es la constituida por una cepa atenuada de *M. bovis* denominada BCG (bacilo de Calmette-Guérin). Al parecer la vacuna confiere protección bastante eficaz contra la tuberculosis extrapulmonar, pero sus resultados contra la tuberculosis pulmonar no son uniformes. En distintos estudios la vacuna BCG confiere protección a entre 0 y 80% de los individuos vacunados; en algunos casos esta vacunación incluso incrementa el riesgo de infección. Más aún, después de la vacunación con BCG no puede efectuarse la prueba cutánea de la tuberculina como estudio eficaz para vigilar la exposición a *M. tuberculosis*. La vacuna BCG dejó de emplearse en Estados Unidos a causa de su eficacia variable y de la imposibilidad de vigilar la exposición al bacilo de la tuberculosis mediante la prueba cutánea después de aplicar aquélla. Sin embargo, el incremento alarmante de cepas resistentes a muchos fármacos estimula esfuerzos renovados para desarrollar una vacuna más eficaz.

Enfermedades parasitarias

El término *parásito* abarca un gran número de protozoarios y helmintos que representan una enorme carga para la salud, principalmente en países en vías de desarrollo. La diversidad del universo parasitario hace difícil generalizar, pero una diferencia importante entre los tipos de parásitos es que los protozoarios son eucariotes unicelulares que suelen vivir y multiplicarse dentro de las células del hospedador, mientras que los helmintos parásitos son organismos multicelulares (gusanos) que infestan al ser humano pero poseen la capacidad de vivir y reproducirse fuera de él. La mayoría de las infecciones parasitarias causa enfermedad crónica más que aguda, aunque existen algunas infecciones, más notablemente ataques palúdicos agudos. Existen abundantes pruebas de la evasión que hacen los parásitos del sistema inmunitario, lo cual les permite infectar de manera crónica a su hospedador, y en algunos casos se conocen los detalles de los mecanismos de ataque. Mediante sistemas experimentales, por lo común modelos murinos de infección, se ha definido el modo en que se adquiere inmunidad a determinados parásitos, pero la complejidad de las infecciones (o infestaciones) parasitarias impide hacer generalizaciones simples.

Las enfermedades por protozoarios afectan a millones de personas en todo el mundo

Los protozoarios causan diversas enfermedades graves en el ser humano, como amebosis, enfermedad de Chagas, enfermedad del sueño, paludismo, leishmaniosis y toxoplasmosis. El tipo de reacción inmunitaria que se desarrolla contra la infección por protozoarios y su eficacia dependen en parte de la localización del parásito en el interior del hospedador. El ciclo vital de muchos protozoarios incluye etapas en las que se encuentran libres en la sangre circulante, y es durante estas etapas cuando los anticuerpos humorales tienen más eficacia. Muchos de estos mismos agentes patógenos también son capaces de desarrollarse dentro de las células; las reacciones inmunitarias mediadas por células son eficaces en la defensa del hospedador durante estas etapas. En la creación de vacunas contra las enfermedades por protozoarios debe considerarse con mucho cuidado la rama del sistema inmunitario que es más probable que confiera protección.

El paludismo (especies de *Plasmodium*) infecta a 600 millones de personas en todo el mundo

El paludismo es una de las enfermedades más devastadoras en el mundo actual; los plasmodios productores infectan alrededor de 10% de la población mundial y producen la muerte de uno a dos millones de personas cada año. El paludismo es causado por diversas especies de microorganismos del género *Plasmodium*, de los que el más virulento y preponderante es *P. falciparum*. La propagación alarmante de resistencia de *Plasmodium* a múltiples fármacos y el aumento de la resistencia de su vector, la hembra del mosquito *Anopheles*, a los plaguicidas ponen de relieve la importancia de desarrollar nuevas estrategias para frenar la diseminación del paludismo.

Ciclo de vida de los plasmodios y patogénesis del paludismo

Plasmodium pasa por una serie notable de etapas de desarrollo y maduración durante su ciclo de vida extremadamente complejo. Los mosquitos *Anopheles* hembras, que se alimentan de sangre, son los vectores de estos protozoarios, y en su interior ocurre parte del ciclo vital de éstos. (Los mosquitos machos de este género se alimentan de jugos de plantas, por lo que no transmiten los plasmodios.)

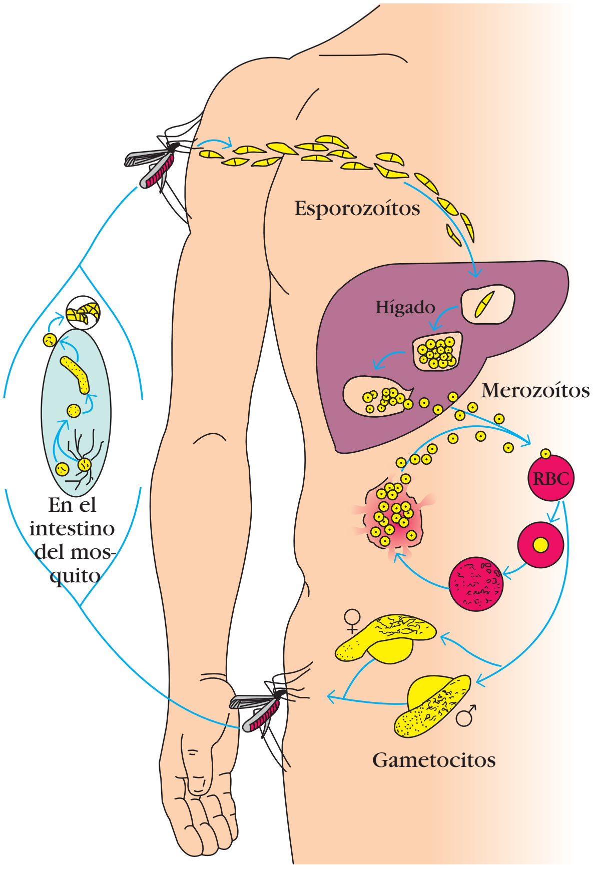


FIGURA 18-11 Ciclo de vida de *Plasmodium*. Los esporozoítos entran en la sangre cuando un mosquito infectado pica al individuo para alimentarse. Los esporozoítos migran hacia el hígado, donde se multiplican, transformando los hepatocitos en esquizontes multinucleados gigantes, que liberan cientos de merozoítos en la sangre. Éstos infectan los eritrocitos, que por último estallan y liberan más merozoítos. Algunos de éstos se diferencian en gametocitos machos y hembras, que se diferencian en gametos una vez que el mosquito los ingiere. Los gametos se fusionan para formar un cigoto que se diferencia para llegar a la etapa de esporozoíto dentro de la glándula salival del insecto.

La infección humana se inicia en el momento en que los esporozoítos, una de las etapas del desarrollo de *Plasmodium*, se introducen en la sangre de una persona cuando el mosquito infectado se alimenta de ella (fig. 18-11). En 30 min los esporozoítos desaparecen de la sangre y se localizan en el hígado, donde infectan los hepatocitos. Los esporozoítos son células largas y delgadas cubiertas por una proteína de 45 kDa denominada antígeno circunesporozoíto (CS) que al parecer media la adhesión del protozoario a los hepatocitos. El sitio de fijación sobre el antígeno CS es una región conservada en el extremo carboxilo terminal (llamada región II) que tiene gran homología de secuencia con moléculas de adhesión celular conocidas.

Dentro del hígado los esporozoítos se multiplican de manera extensa y experimentan una serie compleja de transformaciones que culminan en la formación y la liberación de merozoítos en alrededor de una semana. Se estima que un hepatocito infectado por un solo esporozoíto puede liberar 5 000 a 10 000 merozoítos. Los merozoítos infectan los eritrocitos e inician los síntomas y los efectos patológicos del paludismo. Los merozoítos se multiplican y experimentan diferenciaciones sucesivas dentro del eritrocito; por último, la célula estalla y libera nuevos merozoítos, que infectan más eritrocitos. Algunos merozoítos se diferencian en gametocitos machos y hembras, que el mosquito *Anopheles* hembra puede ingerir al alimentarse de la sangre del enfermo. Dentro del intestino del mosquito los gametocitos de ambos géneros se diferencian en gametos que se fusionan para formar cigotos, los cuales se multiplican y diferencian a su vez en esporozoítos en la glándula salival del insecto. El mosquito infectado está de nuevo listo para iniciar el ciclo de la enfermedad.

Los síntomas del paludismo consisten en escalofríos, fiebre y diaforesis recurrentes. Llegan a su máximo aproximadamente cada 48 h, en los momentos en que las generaciones sucesivas de merozoítos se liberan desde los eritrocitos infectados. El enfermo presenta debilidad y anemia, y desarrolla esplenomegalia (crecimiento del bazo). Las grandes cantidades de merozoítos formados pueden bloquear los capilares, lo que ocasiona cefaleas intensas, insuficiencia renal, insuficiencia cardíaca o lesión cerebral, a menudo con consecuencias letales. Se especula que algunos de los síntomas del paludismo no se deben al propio plasmodio sino al exceso de citocinas producidas. Esta hipótesis se originó en la observación de que los pacientes cancerosos que en pruebas clínicas se trataron con factor de necrosis tumoral (TNF) recombinante desarrollaban síntomas similares a los del paludismo. Las posibles relaciones entre el TNF y los síntomas de paludismo se estudiaron en ratones infectados con su cepa específica de *Plasmodium*, que les produce con rapidez la muerte por paludismo cerebral. Se demostró que la inyección de anticuerpos contra el TNF a estos ratones impedía que murieran pronto.

Reacción del hospedador a la infección por *Plasmodium*

La respuesta inmunitaria a la infección por *Plasmodium* es deficiente en las regiones en que el paludismo es endémico. Los niños menores de 14 años montan la reacción más débil y por tanto son los que tienen más probabilidades de desarrollar la enfermedad. En algunas regiones la mortalidad infantil por paludismo llega a 50%, y en todo el mundo la enfermedad mata a alrededor de un millón de niños cada año. La baja reacción inmunitaria al protozoario entre los niños puede demostrarse al medir las concentraciones séricas de anticuerpo contra la etapa de esporozoíto. Sólo 22% de los niños que viven en regiones endémicas tiene anticuerpos perceptibles contra la etapa de esporozoíto, en tanto que 84% de los adultos de estas zonas los tiene. Sin embargo, incluso en adultos el grado de inmunidad dista mucho de ser completo, y la mayoría de las personas que viven en las regiones endémicas experimenta infecciones por *Plasmodium* de bajo nivel durante toda su vida.

Diversos factores pueden contribuir a los niveles bajos de reactividad inmunitaria a estos protozoarios. Los cambios de la maduración desde el esporozoíto hasta el merozoíto y el gametocito permiten al microorganismo seguir modificando sus moléculas de superficie, lo que produce cambios continuos en los antígenos que el sistema inmunitario detecta. También las fases intracelulares del ciclo de vida del parásito en los hepatocitos y los eritrocitos reducen el grado de activación inmunitaria generada por el agente patógeno y le permiten multiplicarse mientras está protegido contra el ataque. Más aún, en la etapa más accesible el esporozoíto circula en la sangre durante apenas unos 30 min antes de infectar los hepatocitos; es poco probable que ocurra una activación inmunitaria importante en este tiempo tan breve. Incluso cuando se monta una reacción de anticuerpo contra los esporozoítos, *Plasmodium* desarrolla una manera de superar tal respuesta al deshacerse de su cubierta superficial de antígeno CS, con lo que los anticuerpos pierden eficacia.

Diseño de vacunas contra el paludismo

Una vacuna eficaz contra el paludismo debe maximizar los mecanismos inmunitarios de defensa más eficaces. Por desgracia se sabe poco acerca de las funciones que las reacciones humorales y mediadas por células desempeñan en el desarrollo de inmunidad protectora contra esta enfermedad. Los criterios actuales para el diseño de vacunas contra el paludismo recurren a diversos enfoques. Un blanco obvio es la etapa de esporozoíto; el bloqueo de la primera fase de la invasión podría prevenir la infección. Una vacuna experimental, por ejemplo, consiste en esporozoítos de *Plasmodium* atenuados mediante radiación X. En un estudio nueve voluntarios se inmunizaron de manera repetida por medio de picaduras de mosquitos infectados por *P. falciparum* sometidos a radiación. Las inoculaciones ulteriores mediante picaduras de mosquitos infectados por *P. falciparum* virulento demostraron que seis de los nueve sujetos estaban protegidos por completo contra el protozoario. Aunque estos resultados son alentadores, aún es un problema transferirlos a la inmunización masiva. Los esporozoítos no se desarrollan bien en células cultivadas, de modo que se requeriría un insectario enorme para criar mosquitos en los cuales producir suficientes esporozoítos radiados para vacunar apenas un pequeño poblado.

Otras estrategias de producción de vacunas están encaminadas a la manufactura de vacunas subunitarias sintéticas consistentes en epítopos de la etapa sanguínea del parásito que puedan ser reconocidas por células T y B. Un enfoque más imaginativo y global se refiere a vacunas llamadas de bloqueo de la transmisión, que se unen a proteínas expresadas por el parásito en la etapa de mosquito, con lo cual impiden que ocurra esa fase del ciclo de multiplicación. El mosquito hembra ingeriría los anticuerpos del hospedador vacunado junto con la sangre, aquéllos impedirían el desarrollo de la siguiente etapa en el ciclo de vida del parásito, y el mosquito no transmitiría la enfermedad a la próxima persona en ser picada; ello bloquearía eficazmente el ciclo de transmisión. Una vez que se vacunara a una cantidad suficiente de personas en una zona dada, el ciclo de transmisión se interrumpiría.

Hasta la fecha no se ha desarrollado una vacuna eficaz contra el paludismo, pero ésta es un área de investigación activa, y se intentan muchas estrategias. Es posible que en una vacuna exitosa se utilice una estrategia combinada, en la que se ataquen distintos antígenos en distintas etapas del ciclo de vida del parásito.

Dos especies de *Trypanosoma* causan la enfermedad del sueño

Dos especies de tripanosomas africanos, que son protozoarios flagelados, pueden producir la enfermedad del sueño, un padecimiento crónico y debilitante que se transmite al ser humano y el ganado bovino por la picadura de la mosca tse-tsé (género *Glossina*). En la sangre circulante el tripanosoma se diferencia en una forma larga y delgada que continúa en división cada 4 a 6 h. La enfermedad pasa por varias etapas; principia por una temprana (sistémica) en la cual los protozoarios se multiplican en la sangre y avanza hasta la etapa neurológica, en la que el parásito infecta el sistema nervioso central y causa meningoencefalitis y por último pérdida del conocimiento.

Conforme el número de parásitos aumenta después del inicio de la infección, se desarrolla una reacción de anticuerpo eficaz contra la cubierta proteínica que recubre al parásito, denominada glucoproteína de superficie variante (VSG) (fig. 18-12). Estos anticuerpos eliminan la mayor parte de los parásitos que se encuentran en la sangre tanto por lisis mediada por complemento como por opsonización y fagocitosis ulterior. No obstante, alrededor de 1% de los microorganismos, que portan un VSG antigénicamente distinto, escapa al ataque de anticuerpos inicial. Estos protozoarios sobrevivientes empiezan a proliferar en la sangre y sobreviene una segunda oleada de parasitemia. Las oleadas sucesivas de parasitemia reflejan un mecanismo único de cambio antigénico mediante el cual los tripanosomas pueden evadir la reacción inmunitaria contra sus antígenos glucoproteínicos. Este proceso es tan eficaz, que cada nueva variante que surge en el transcurso de una sola infección puede escapar a los anticuerpos humorales generados como reacción a la variante previa, de modo que ocurren oleadas de parasitemia (fig. 18-12a).

Varios procesos genéticos inusuales generan la variación extensa de la VSG tripanosómica que permite al microorganismo escapar a la depuración inmunitaria. Un solo tripanosoma posee un gran repertorio de genes VSG, cada uno de los cuales codifica una secuencia primaria diferente de esta glucoproteína. El genoma de *Trypanosoma brucei*, por ejemplo, contiene más de 1 000 genes VSG acumulados en sitios cromosómicos múltiples. Un tripanosoma expresa un solo gen VSG a la vez. La activación de un gen de esta clase da por resultado su duplicación y transposición hacia un sitio de expresión (ES) transcripcionalmente activo en el extremo telomérico de cromosomas específicos (fig. 18-12b). La activación de un nuevo gen VSG desplaza el gen previo de ese sitio de expresión telomérico. Diversos cromosomas del tripanosoma tienen sitios de expresión transcripcionalmente activos en sus extremos teloméricos, por lo que cierto número de genes VSG puede expresarse, pero mecanismos de control aún no identificados limitan la expresión a un solo gen VSG a la vez en ese sitio.

Parece haber cierto orden en la variación de la VSG durante el proceso infeccioso. Cada nueva variante surge no por continuación clonal desde una célula variante única, sino más bien a partir del desarrollo de múltiples células que activan el mismo gen VSG durante la oleada del crecimiento parasitario de ese momento. Se desconoce la manera en que se regula este proceso entre los tripanosomas individuales. Los cambios continuos en los epítopos expresados por la VSG dificultan mucho la creación de una vacuna contra la enfermedad del sueño.

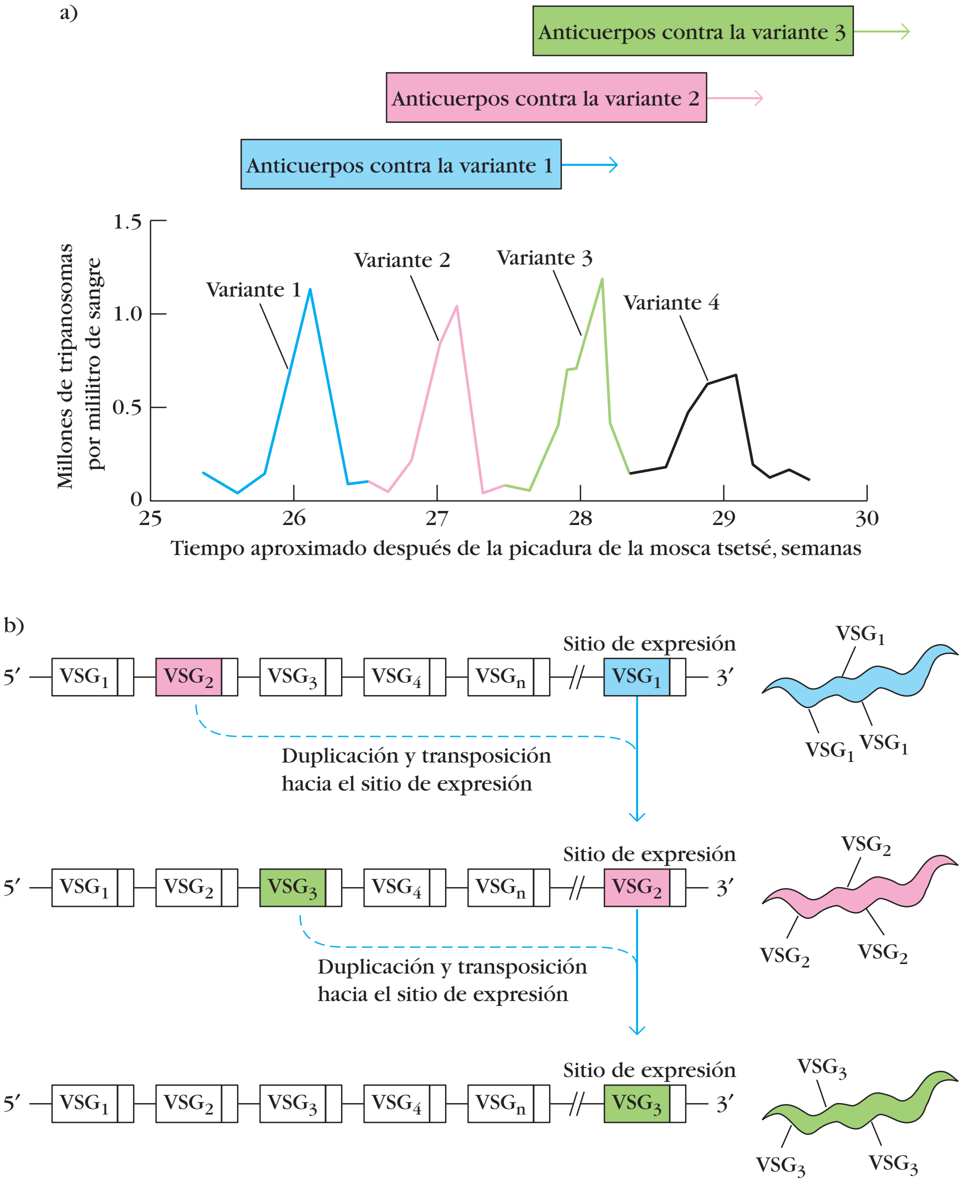
La leishmaniosis es un modelo útil para demostrar las diferencias en las reacciones del hospedador

El protozoario parásito *Leishmania major* ofrece un ejemplo muy ilustrativo de la forma en que las defensas del hospedador difieren entre los distintos individuos. Estas diferencias pueden llevar a la eliminación del parásito o la muerte del sujeto a causa de la infección. *Leishmania* es un protozoario que vive en los fagosomas de los macrófagos. La resistencia a la infección se correlaciona bien con la producción de IFN-γ y el desarrollo de una respuesta de T_H1. Estudios excelentes realizados en ratones mostraron que las cepas que son resistentes a *Leishmania* desarrollan una reacción de T_H1 y producen IFN-γ al infectarse. Estas cepas de ratones se vuelven muy susceptibles a la mortalidad por *Leishmania* si pierden su IFN-γ o su receptor de este interferón, lo que destaca la importancia del IFN-γ para contener la infección. Unas cuantas cepas de ratones, como la BALB/c, son en extremo susceptibles a *Leishmania* y con frecuencia estos animales sucumben a la infección. Montan una respuesta del tipo T_H2 a la infección por *Leishmania*; producen concentraciones elevadas de IL-4 pero, en esencia, nada de IFN-γ. Por tanto, la diferencia entre la defensa eficaz y la ineficaz contra este parásito es el desarrollo de una reacción del tipo T_H1 o del tipo T_H2. Estudios recientes demostraron que una diferencia entre las cepas resistentes y la cepa BALB/c de ratones consiste en que un pequeño subconjunto restringido de células $CD4^+$ de la cepa BALB/c es capaz de reconocer un epítopo particular de *L. major*, y que este subconjunto produce concentraciones elevadas de IL-4 muy al principio de la reacción al parásito. Esto desvía la reacción hacia un tipo predominantemente T_H2. La comprensión del modo en que estas diferentes reacciones de las células T colaboradoras afectan los resultados de la infección podría ofrecer un criterio más racional para el diseño de tratamientos eficaces y vacunas exitosas contra otros patógenos.

Diversas enfermedades son causadas por gusanos parásitos (helmintos)

Los gusanos (helmintos) parásitos causan una amplia variedad de enfermedades en seres humanos y animales. Aunque los helmintos son más accesibles al sistema inmunitario que los protozoarios, la mayoría de los individuos infectados tiene pocos parásitos; por ello el sistema inmunitario no reacciona con intensidad y a menudo el nivel de inmunidad que desarrolla contra los helmintos es muy deficiente. Más de mil millones de personas están parasitadas por gusanos del género *Ascaris*, que reside en el intestino delgado, y más de 300 millones de personas están infectadas con helmintos del género *Schistosoma*, trematodos que producen infección debilitante crónica. Diversos helmintos son patógenos importantes de animales domésticos e invaden a las personas que ingieren alimentos contaminados. Estos helmintos incluyen *Taenia*, un cestodo del bovino y el cerdo, y *Trichinella*, el nematodo del cerdo que causa la triquinosis.

FIGURA 18-12 PARA VISUALIZACIÓN DE CONCEPTOS: Las oleadas sucesivas de parasitemia después de la infección por *Trypanosoma* son resultado de cambios antigénicos en la glucoproteína de superficie variante (VSG) del parásito


a)
Anticuerpos contra la variante 3
Anticuerpos contra la variante 2
Anticuerpos contra la variante 1
Millones de tripanosomas por mililitro de sangre
1.5
1.0
0.5
0
Variante 1
Variante 2
Variante 3
Variante 4
25
26
27
28
29
30
Tiempo aproximado después de la picadura de la mosca tsetsé, semanas
b)
Sitio de expresión
5′
VSG₁
VSG₂
VSG₃
VSG₄
VSGₙ
VSG₁
3′
VSG₁
VSG₁
VSG₁
Duplicación y transposición hacia el sitio de expresión
Sitio de expresión
5′
VSG₁
VSG₂
VSG₃
VSG₄
VSGₙ
VSG₂
3′
VSG₂
VSG₂
VSG₂
Duplicación y transposición hacia el sitio de expresión
Sitio de expresión
5′
VSG₁
VSG₂
VSG₃
VSG₄
VSGₙ
VSG₃
3′
VSG₃
VSG₃
VSG₃

a) Cada variante que surge es inmune al ataque de los anticuerpos humorales inducidos por la variante previa. b) Ocurren cambios antigénicos en los tripanosomas por duplicación de los segmentos génicos que codifican las moléculas variantes de VSG y transposición de éstas hacia sitios de expresión localizados cerca del telómero. *[Parte a adaptada de J. Donelson, 1988,* The Biology of Parasitism, *Alan R. Liss, New York.]*

Varias especies de *Schistosoma* causan la enfermedad debilitante crónica y en ocasiones mortal llamada **esquistosomosis** (antes conocida como *bilhariasis*). *S. mansoni, S. japonicum* y *S. hamematobium* son los patógenos principales para el ser humano e infectan a personas de África, Medio Oriente, Sudamérica, el Caribe, China, sudeste de Asia y Filipinas. En años recientes la incidencia de esquistosomosis experimentó un incremento paralelo al del riego agrícola a nivel mundial, que extendió el hábitat de los caracoles de agua dulce que sirven como hospedadores intermediarios de los esquistosomas.

La infección se produce por contacto con las larvas infecciosas librenadadoras, llamadas cercarias, que cada caracol infectado libera a un ritmo de 300 a 3 000 por día. Cuando las cercarias hacen contacto con la piel humana secretan enzimas digestivas que les ayudan a perforarla; en ese sitio se desprenden de sus colas y se transforman en esquistosómulas. Éstas ingresan en los capilares y emigran hacia los pulmones, luego hacia el hígado y por último hasta el sitio de la infección primaria, que varía según la especie. *Schistosoma mansoni* y *S. japonicum* infectan las venas mesentéricas, y *S. haematobium*, las venas de la vejiga urinaria. Luego de establecerse en su sitio tisular final, las esquistosómulas maduran en gusanos machos y hembras adultos. A continuación se aparean y las hembras producen por lo menos 300 huevecillos espiculados al día. A diferencia de los protozoarios parásitos, los esquistosomas y otros helmintos no se reproducen dentro del hospedador. Los huevecillos que los gusanos hembras producen no maduran hasta las formas adultas en el ser humano; más bien algunos salen en el excremento o la orina para infectar más caracoles. El número de gusanos en un sujeto infectado aumenta sólo tras la exposición repetida a las cercarias libranadadoras, y quienes están infectados son portadores de cantidades más bien reducidas de gusanos.

Los huevecillos de estos parásitos inician la mayor parte de los síntomas de la esquistosomosis. Hasta la mitad de los producidos permanecen en el hospedador, en el que invaden la pared intestinal, el hígado o la vejiga y producen hemorragia. Después puede desarrollarse un estado crónico en el que los gusanos adultos persisten y los huevecillos no excretados inducen reacciones de hipersensibilidad tardía mediadas por células que causan la formación de grandes granulomas que poco a poco son tabicados por tejido fibroso. Aunque los huevecillos quedan apresados en el granuloma, a menudo es éste el que obstruye el flujo sanguíneo venoso hacia el hígado o la vejiga.

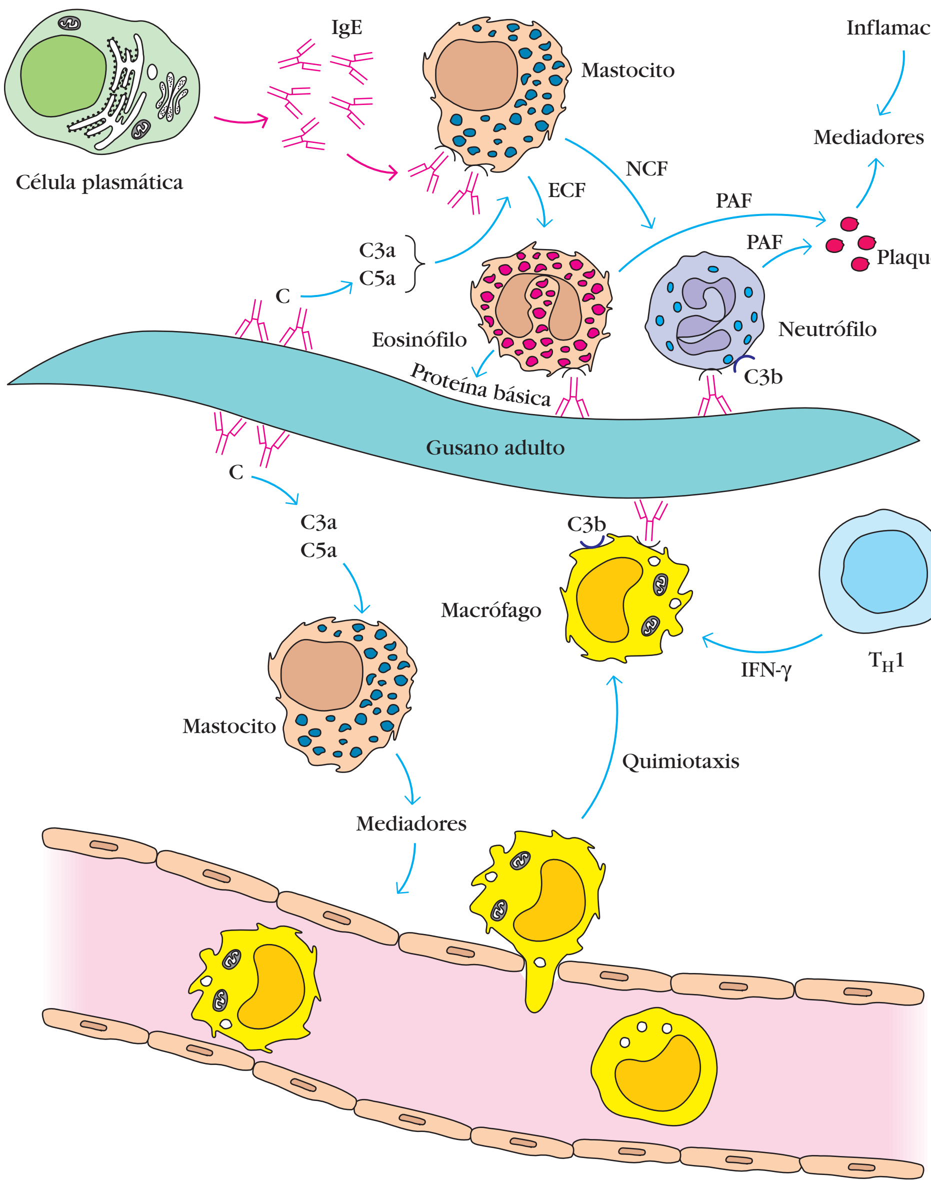
Si bien se desarrolla una inmunorreacción contra los esquistosomas, en la mayoría de los individuos no es suficiente para eliminar los gusanos adultos, a pesar de que los sitios intravasculares infestados por los gusanos deben hacer a éstos blancos fáciles del ataque inmunitario. En cambio, los gusanos sobreviven hasta por 20 años. Las esquistosómulas parecen ser las formas del parásito más susceptibles al ataque, pero como son mótiles, pueden evadir la acumulación tisular localizada de células inmunitarias e inflamatorias. Los esquistosomas adultos cuentan además con varios mecanismos únicos que los protegen contra las inmunodefensas del hospedador. Está demostrado que el gusano adulto disminuye la expresión de antígenos sobre su membrana exterior y que también es capaz de encerrarse en una cubierta glucolípida y glucoproteínica derivada del hospedador, lo que oculta la presencia de sus propios antígenos. Increíblemente, entre los antígenos observados en el gusano adulto se encuentran los de grupo sanguíneo ABO y los de histocompatibilidad del propio hospedador. La reacción inmunitaria es disminuida, desde luego, por esta cubierta de antígenos propios del individuo parasitado, lo que debe contribuir a la persistencia del invasor durante toda la vida.

La importancia relativa de las reacciones humoral y mediada por células en la inmunidad protectora contra la esquistosomosis es motivo de controversias. La reacción humoral a la infección por *S. mansoni* se caracteriza por títulos altos de anticuerpos IgE contra los esquistosomas, incrementos localizados en los mastocitos y su desgranulación subsecuente, y números aumentados de eosinófilos (fig. 18-13, *arriba*). Estas manifestaciones sugieren que las citocinas producidas por un subconjunto de células tipo T_H2 son importantes para la inmunorreacción: IL-4, que induce a las células B para que cambien su producción a la de IgE; IL-5, que induce a los precursores de la médula ósea para que se diferencien en eosinófilos, e IL-3, que (junto con IL-4) estimula la proliferación de mastocitos. La desgranulación de estos últimos libera mediadores que incrementan la infiltración de células inflamatorias como macrófagos y eosinófilos. Los eosinófilos expresan receptores Fc para la IgE y la IgG, y se fijan al parásito cubierto de anticuerpo. Una vez fijo en el parásito, el eosinófilo puede participar en la citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo (ADCC), con liberación desde sus gránulos de mediadores que lesionan el parásito (fig. 14-12). Un mediador del eosinófilo, llamado proteína básica, es en particular tóxico para los helmintos.

Sin embargo, los estudios de inmunización en ratones sugieren que es posible que esta reacción humoral de IgE no confiera inmunidad protectora. Cuando se inmunizan ratones con vacuna contra *S. mansoni*, la inmunorreacción protectora que se desarrolla no es de IgE, sino más bien de T_H1 caracterizada por producción de IFN-γ y acumulación de macrófagos (fig. 18-13, *abajo*). Más aún, las cepas endogámicas de ratones con deficiencias de mastocitos o IgE adquieren inmunidad protectora con la vacunación, en tanto que las deficientes en reacciones de células T CD4$^+$ mediadas por células no adquieren inmunidad protectora en respuesta a la vacuna. Estos estudios señalan que la reacción de células T CD4$^+$ puede ser la más importante en la inmunidad a la esquistosomosis. Se ha sugerido que es posible que la capacidad de inducir una reacción tipo T_H2 ineficaz surgiera en los esquistosomas como un ingenioso mecanismo de defensa para asegurar que las células T_H2 produjeran cantidades suficientes de IL-10 para inhibir la inmunidad protectora mediada por el subconjunto de células tipo T_H1 en la reacción T CD4$^+$.

Los antígenos presentes en la membrana de las cercarias y las esquistosómulas jóvenes son componentes vacunales promisorios, porque al parecer estas etapas son las más susceptibles al ataque inmunitario. La inyección a ratones y ratas de anticuerpos monoclonales contra las cercarias y las esquitosómulas jóvenes transfirió de manera pasiva resistencia contra la infección por cercarias vivas. Cuando estos anticuerpos protectores se emplearon en columnas de afinidad para purificar los antígenos de la membrana de los esquistosomas a partir de extractos de membrana crudos, se encontró que los ratones inmunizados con estos antígenos purificados y que recibieron refuerzos de éstos mostraban resistencia incrementada a la carga ulterior de cercarias vivas. A continuación se establecieron bibliotecas de cDNA esquistosómico y se tamizaron con los anticuerpos monoclonales protectores para identificar los cDNA que codifican los antígenos de superficie. Están en curso experimentos con cercarias clonadas o antígenos de esquistosómulas a fin

FIGURA 18-13 PARA VISUALIZACIÓN DE CONCEPTOS: Panorama general de la reacción inmunitaria generada contra *Schistosoma mansoni*


IgE
Inflamación
Mastocito
Mediadores
Célula plasmática
NCF
ECF
PAF
PAF
Plaquetas
C3a
C5a
C
Neutrófilo
Eosinófilo
Proteína básica
C3b
Gusano adulto
C
C3a
C5a
C3b
Macrófago
T_H1
IFN-γ
Mastocito
Quimiotaxis
Mediadores

La reacción incluye un componente humoral de IgE (*arriba*) y un componente mediado por células en el que participan células T CD4$^+$ (*abajo*). C = complemento; ECF = factor quimiotáctico de eosinófilos; NCF = factor quimiotáctico de neutrófilos; PAF = factor activador de plaquetas.

de valorar su capacidad de inducir inmunidad protectora en modelos animales. Sin embargo, en el desarrollo de una vacuna eficaz contra la esquistosomosis existe una línea delgada que separa la reacción inmunitaria beneficiosa, que en el mejor de los casos limita la carga de parásitos, de la reacción dañina, que por sí misma puede tornarse patológica.

Enfermedades micóticas

Los micólogos estiman que existen hasta un millón de especies de hongos. Alrededor de 400 de ellos son patógenos para el ser humano. Este diverso grupo de organismos ocupa muchos nichos

CUADRO 18-4 Clasificación de las micosis

Sitio de la infección	Superficial Cutánea Subcutánea Profunda o sistémica	Epidermis, sin inflamación Piel, pelo, uñas Heridas, usualmente inflamatoria Pulmones, vísceras abdominales, huesos, SNC
Vía de adquisición	Exógena Endógena	Ambiente, aire, cutánea o percutánea Reactivación latente, microorganismo comensal
Virulencia	Primaria Oportunista	Virulenta de manera inherente, infecta hospedadores saludables Baja virulencia, infecta hospedadores inmunodeficientes

y también presta servicios a la humanidad en la fermentación de pan, queso, vino y cerveza y en la producción de penicilina, un antibiótico prototípico. Pueden ocurrir infecciones cuando se introducen organismos exógenos por lesión o inhalación, o cuando microorganismos endógenos hallan una brecha en la inmunidad. Los productos micóticos pueden ser tóxicos, carcinógenos o incluso, en el caso de algunas setas, alucinógenos. La primera enfermedad del ser humano que se demostró que es de origen micótico es la tiña. En 1843, David Grub aisló un hongo de un paciente con tiña y luego demostró que causaba la enfermedad cuando lo inoculó en piel normal.

Las enfermedades micóticas o micosis se clasifican por

- Sitio de infección: superficial, cutánea, subcutánea o profunda y sistémica
- Vía de ingreso: endógena o exógena
- Virulencia: primaria u oportunista

Estas categorías (que se resumen en el cuadro 18-4) no son mutuamente excluyentes. Por ejemplo, una infección como la coccidiomicosis puede avanzar de una lesión cutánea a una profunda sistémica de los pulmones. Las infecciones cutáneas incluyen el ataque de piel, cuero cabelludo y uñas; son ejemplos la tiña (causada por *Trichophyton tonsurans* o *Microsporum audouinii*), el pie de atleta y la tiña corporal (causada más a menudo por *Trichophyton mentagrophytes*). Las infecciones subcutáneas suelen ser introducidas por traumatismos y acompañarse de inflamación; si ésta es crónica, es posible que ocurra daño tisular extenso. Las micosis profundas afectan pulmones, sistema nervioso central, huesos y vísceras abdominales. La persona se infecta por ingestión, inhalación o inoculación en el torrente sanguíneo.

La virulencia se divide en primaria —lo cual indica agentes de alta patogenicidad— y oportunista —que denota agentes débilmente virulentos que infectan sobre todo a individuos con inmunidad disminuida—. La mayoría de las infecciones micóticas de individuos sanos se resuelve con rapidez, con pocos signos clínicos. Los patógenos micóticos del ser humano más comunes y mejor estudiados son *Cryptococcus neoformans*, *Aspergillus fumigatus*, *Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum* y *Blastomyces dermatitidis*. Las enfermedades causadas por estos hongos se nombran según el agente; por ejemplo, *C. neoformans* causa la criptococosis, y *B. dermatitidis* causa la blastomicosis. En cada caso, la infección por estos agentes ambientales es favorecida por condiciones predisponentes como SIDA, tratamiento inmunosupresor y desnutrición.

La inmunidad innata controla la mayoría de las infecciones micóticas

Las barreras de la inmunidad innata controlan la mayoría de los hongos. Los microorganismos comensales también mantienen a raya la proliferación de determinados patógenos potenciales, como lo demuestra el tratamiento prolongado con antibióticos de amplio espectro, que destruye la flora bacteriana normal de las mucosas y a menudo propicia la infección bucal o vulvovaginal por *Candida albicans*, un agente oportunista. La fagocitosis por neutrófilos es una sólida defensa contra la mayoría de los hongos, y así las personas con neutropenia (bajo recuento de neutrófilos) son susceptibles a las enfermedades micóticas.

Las vías alterna y de lectina para la activación del complemento son inducidas por componentes que se hallan en la mayoría de las paredes celulares micóticas, y en los individuos sanos normales la resolución de la infección es rápida. La proteína de unión a manosa reconoce algunos patógenos micóticos importantes, como *C. albicans* y algunas cepas de *C. neoformans* y *A. fumigatus*. La activación del complemento por la vía alterna o la de lectina permite la unión de componentes al microorganismo y las ulteriores fagocitosis y destrucción intracelular por mecanismos de muerte dependientes e independientes de oxígeno. En el caso de las infecciones pulmonares, proteínas tensoactivas presentes en el pulmón fijan patógenos y fomentan su fagocitosis. Los receptores unidos a membrana, como los receptores del complemento CR1, CR3 y CR4 (cap. 7), así como determinados PRR, se unen a proteínas micóticas y median la fagocitosis o inician la expresión de citocinas que ponen en acción células inmunitarias. El papel de CR3 fue confirmado por el hecho de que la mortalidad por infecciones experimentales de ratones con *Cryptococcus* aumentó tras la administración de un anticuerpo contra CR3. Estudios recientes de la participación de TLR en el combate de infecciones micóticas muestran que TLR2 y TLR4 señalizan respuestas contra *C. neoformans*, *A. fumigatus* y *C. albicans* a través de MyD88 (cap. 3), si bien no es claro el mecanismo exacto de la respuesta.

La inmunidad contra patógenos micóticos puede ser adquirida

Una convincente demostración de la inmunidad adquirida contra infecciones micóticas es la protección contra ataques ulteriores tras la primera infección. Esta protección se demuestra fácilmente en el caso de muchas bacterias y virus pero es menos

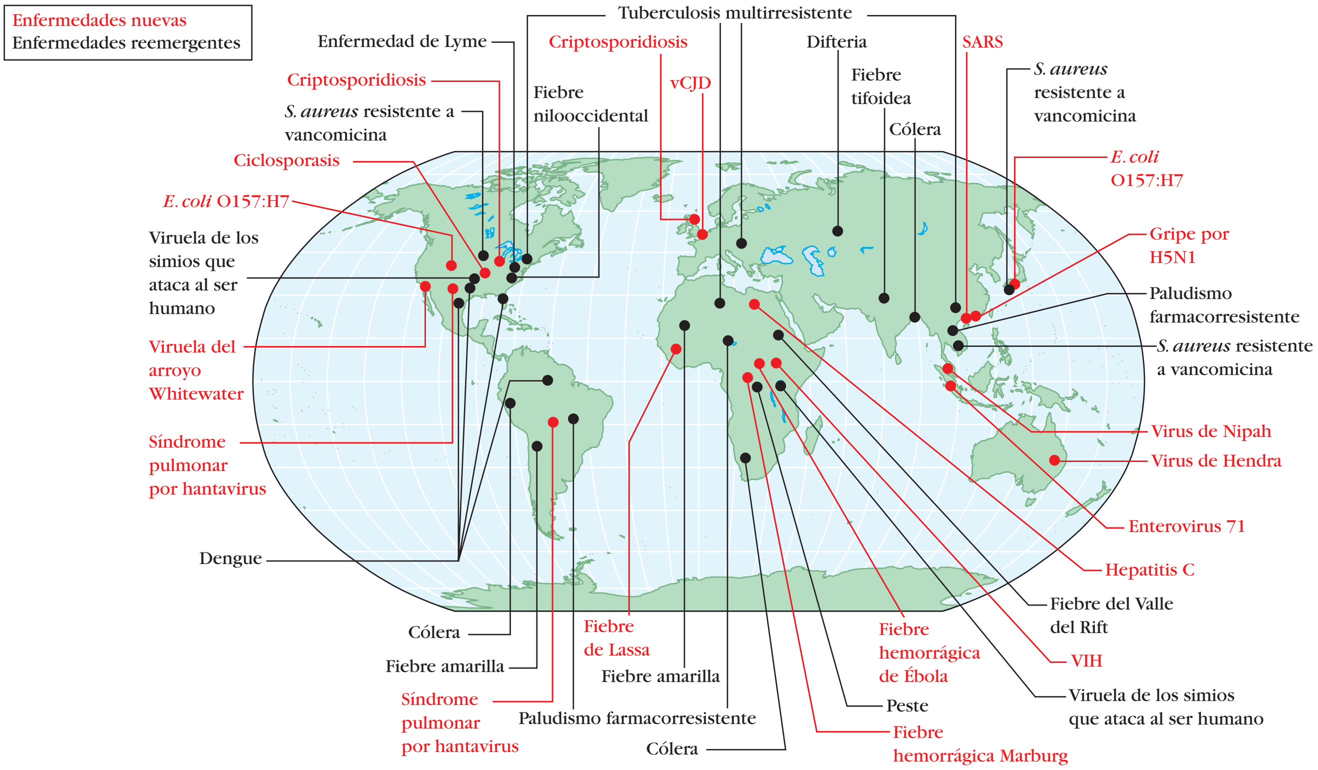

Enfermedades nuevas
Enfermedades reemergentes
Enfermedad de Lyme
Tuberculosis multirresistente
Criptosporidiosis
Difteria
SARS
Criptosporidiosis
vCJD
Fiebre tifoidea
S. aureus resistente a vancomicina
S. aureus resistente a vancomicina
Fiebre nilooccidental
Cólera
Ciclosporasis
E. coli O157:H7
E. coli O157:H7
Gripe por H5N1
Viruela de los simios que ataca al ser humano
Paludismo farmacorresistente
S. aureus resistente a vancomicina
Viruela del arroyo Whitewater
Virus de Nipah
Síndrome pulmonar por hantavirus
Virus de Hendra
Enterovirus 71
Dengue
Hepatitis C
Fiebre del Valle del Rift
Cólera
Fiebre de Lassa
Fiebre hemorrágica de Ébola
VIH
Fiebre amarilla
Fiebre amarilla
Síndrome pulmonar por hantavirus
Paludismo farmacorresistente
Peste
Viruela de los simios que ataca al ser humano
Fiebre hemorrágica Marburg
Cólera

FIGURA 18-14 Ejemplos de enfermedades emergentes y reemergentes y sus puntos de origen. En rojo se representan enfermedades nuevas; en negro, enfermedades reemergentes. [*Adaptada de A. S. Fauci, 2001, Infectious diseases: considerations from the 21st Century,* Clinical Infectious Diseases ***32:****675.*]

obvia en enfermedades micóticas porque a menudo la primera infección pasa inadvertida. La reactividad cutánea positiva a antígenos micóticos es un buen indicador de infección previa y de la presencia de inmunidad celular. En infecciones tisulares, una inflamación granulomatosa controla la diseminación de *C. neoformans* e *H. capsulatum*, indicando la presencia de inmunidad mediada por células adquirida. El microorganismo puede permanecer en estado latente dentro del granuloma, y reactivarse sólo si el paciente sufre de inmunosupresión.

La presencia de anticuerpos suele indicar que una infección fue resuelta y que hay inmunidad de larga duración. Por ejemplo, suelen encontrarse anticuerpos contra *C. neoformans* en sujetos saludables, lo cual indica que ha ocurrido infección por ese agente. Como se expone en el capítulo 19, una vacuna basada en un polisacárido de superficie celular común puede conferir protección contra varios hongos comunes. Otros estudios han mostrado que la transferencia de anticuerpos tiene un efecto similar.

Quizá la prueba más sólida del tipo de inmunidad más eficaz contra patógenos micóticos proviene de la observación de enfermedades normalmente raras en pacientes con inmunodeficiencia. Aunque los pacientes con SIDA sufren de mayor incidencia de candidosis, histoplasmosis, coccidiomicosis y criptococosis de mucosas, existen límites a los alcances y la magnitud de la enfermedad observada. La candidosis bucofaríngea es común en mujeres con SIDA, pero las infecciones vulvovaginal y sistémica por *C. albicans* son raras. Estas observaciones en pacientes con SIDA deficientes en células T, y datos que revelan que los ratones deficientes en células B no presentan mayor susceptibilidad a enfermedades micóticas, indican que otros mecanismos inmunitarios controlan a los patógenos micóticos.

El estudio de la inmunidad a las micosis está relativamente rezagado con respecto a otras áreas de la inmunología. Sin embargo, el número de individuos con distintos grados de inmunodeficiencia está aumentando debido a la propagación del SIDA y al uso de fármacos inmunosupresores para otras condiciones, lo cual asegura que la actividad de investigación en este campo habrá de aumentar. Los mecanismos por los cuales estos patógenos ubicuos son controlados han coevolucionado con los hospedadores mamíferos, y su dilucidación debe abrir nuevas avenidas de conocimiento en inmunología.

Enfermedades infecciosas emergentes

Parece ser que varias veces al año oímos algo sobre el surgimiento de un nuevo virus o una nueva bacteria, a menudo en lugares lejanos y acompañado de enfermedad grave o muerte. Los patógenos de reciente descripción se denominan patógenos emergentes. Algunos de los descritos desde los primeros años del decenio de 1970 aparecen en la figura 18-14. El VIH es un ejemplo de patógeno emergente.

Las enfermedades pueden resurgir por diversas razones

Periódicamente, patógenos que alguna vez fueron temidos y que luego perdieron notoriedad de manera repentina comienzan a infectar cantidades crecientes de individuos. Estos brotes se conocen como enfermedades infecciosas *reemergentes*. Tal reaparición no debe sorprender si se considera que las bacterias pueden adaptarse a vivir casi en cualquier ambiente. Si pueden adaptarse a las ardientes temperaturas de las chimeneas hidrotermales de las profundidades oceánicas, no será difícil aceptar que pueden evolucionar para escapar a la acción de los fármacos antimicrobianos. En la figura 18-14 también se presentan ejemplos de enfermedades reemergentes. El riesgo adicional de las enfermedades diseminadas de manera intencionada se expone en el enfoque clínico.

ENFOQUE CLÍNICO

Amenaza de infección por agentes potenciales de bioterrorismo

El empleo de agentes patógenos humanos como armas de guerra tiene una historia muy larga. Lord Jeffery Amherst utilizó los virus de la viruela contra las poblaciones nativas de Estados Unidos antes de la guerra de independencia de este país, y se conocen informes de intentos de difundir la peste y el carbunco sintomático en el pasado tanto distante como reciente. Hace algunos años los miembros de un culto disidente de Oregon introdujeron salmonelas en las barras de ensaladas de algunos restaurantes con la finalidad de ocasionar enfermedad y muerte. En 2001, oficinas de congresistas y agencias de noticias de Estados Unidos recibieron por correo esporas de *Bacillus anthracis*.

Los patógenos y las toxinas con potencial de emplearse como armas se denominan "agentes selectos" y consisten en bacterias, toxinas bacterianas y ciertos virus (véase cuadro). La amenaza planteada por tales agentes depende tanto de la gravedad de los padecimientos que producen como de la facilidad con que pueden diseminarse. Por ejemplo, el virus Ébola causa una enfermedad hemorrágica fulminante, pero su diseminación requiere contacto directo con los líquidos infectados. Son más preocupantes los agentes patógenos que pueden diseminarse mediante aerosoles, como *Bacillus anthracis*, y las toxinas que pueden añadirse a los alimentos o el agua de consumo humano, como la toxina botulínica.

Agentes de bioterrorismo de la categoría A

- Carbunco sintomático (*Bacillus anthracis*)
- Botulismo (toxina de *Clostridium botulinum*)
- Peste (*Yersinia pestis*)
- Viruela (*Variola major*)
- Tularemia (*Francisella tularensis*)
- Fiebres hemorrágicas víricas (filovirus [p. ej., Ébola, Marburg] y arenavirus [p. ej., Lassa, Machupo])

Resulta irónico que uno de los agentes del bioterrorismo más temidos sea el virus de la viruela, que fue el blanco de la primera vacuna. La viruela es causada por el virus *Variola major*; 30% o más de los sujetos infectados por este virus fallece en el transcurso del mes siguiente a la exposición, y los sobrevivientes pueden quedar con el rostro muy desfigurado por cicatrices. La viruela puede diseminarse con rapidez, incluso antes que los síntomas se manifiesten. Como se describió en el capítulo 1, el agente de la vacuna de la viruela es un virus (*Vaccinia*) relacionado con la enfermedad, que en la mayor parte de los casos produce una pústula localizada que se resuelve en tres semanas. La viruela desapareció como resultado de la vacunación generalizada, y el último caso notificado de infección natural ocurrió en 1977. Como la enfermedad fue erradicada, la vacuna se suspendió. En Estados Unidos la vacunación se interrumpió en 1972. La producción de la vacuna se interrumpió y las dosis restantes se almacenaron.

Las razones para interrumpir la vacunación contra la viruela incluyen los efectos adversos que afectan a cerca de 40 individuos por cada millón de vacunados. Pueden poner en peligro la vida y adoptan la forma de encefalitis o infección cutánea diseminada. Además, es posible que los individuos recién vacunados diseminen el virus a otras personas, en particular las que experimentan trastornos de la inmunidad. Las reacciones negativas ocasionales al virus de la viruela bovina (*Vaccinia*) pueden tratarse mediante la administración de inmunoglobulina aislada de los sueros de personas vacunadas con anterioridad, pero esta llamada *Vaccinia* IG, o VIG, dejó de producirse y queda muy poca disponible. La amenaza de la viruela como agente del bioterrorismo significa que la necesidad de la vacunación debe replantearse. Es poco probable que la vacuna que se produce en la actualidad sea la misma que se empleó antes. La vacuna antigua se producía mediante infección de la piel escarificada de terneras, y el virus se recolectaba de los raspados de la región infectada. Con probabilidad se producirá una nueva vacuna candidata bajo condiciones controladas en una línea de células tisulares cultivadas certificada como libre de virus contaminantes, y el virus que ahora se usa puede ser una forma más altamente atenuada del virus de la *Vaccinia*. Es necesario restituir las reservas de VIG antes de iniciar un esfuerzo de vacunación masiva.

La mayor parte de los virus de la lista de agentes selectos no se disemina con facilidad. Los agentes del bioterrorismo dispuestos en una forma que permite su fácil dispersión pueden denominarse *armas biológicas*. Aunque los escenarios de pesadilla incluyen agentes víricos sometidos a ingeniería genética en un laboratorio montado ex profeso, los agentes patógenos que es más probable que sean armas biológicas son las bacterias. La liberación accidental de *Bacillus anthracis* en Sverdlovsk (antigua Unión Soviética) infectó a 79 personas, de las que murieron 68, lo que indica el potencial mortífero de este microorganismo. A finales de 2001 cartas que contenían esta bacteria (véase la figura acompañante) infectaron a varias personas en múltiples centros postales y estas cartas llegaron hasta su destino, lo que ofrece una perspectiva de la amplitud y la rapidez con que un arma biológica puede diseminarse a través de la infraestructura moderna.

Bacillus anthracis es un agente patógeno veterinario común y, como el virus de la viruela, fue el motivo de los primeros esfuerzos en vacunación, en este caso los de Louis Pasteur. La infección humana se encontró principalmente en quienes trabajaban con pelo o pelajes de animales, en particular cabras. La infección se produce por tres vías diferentes:

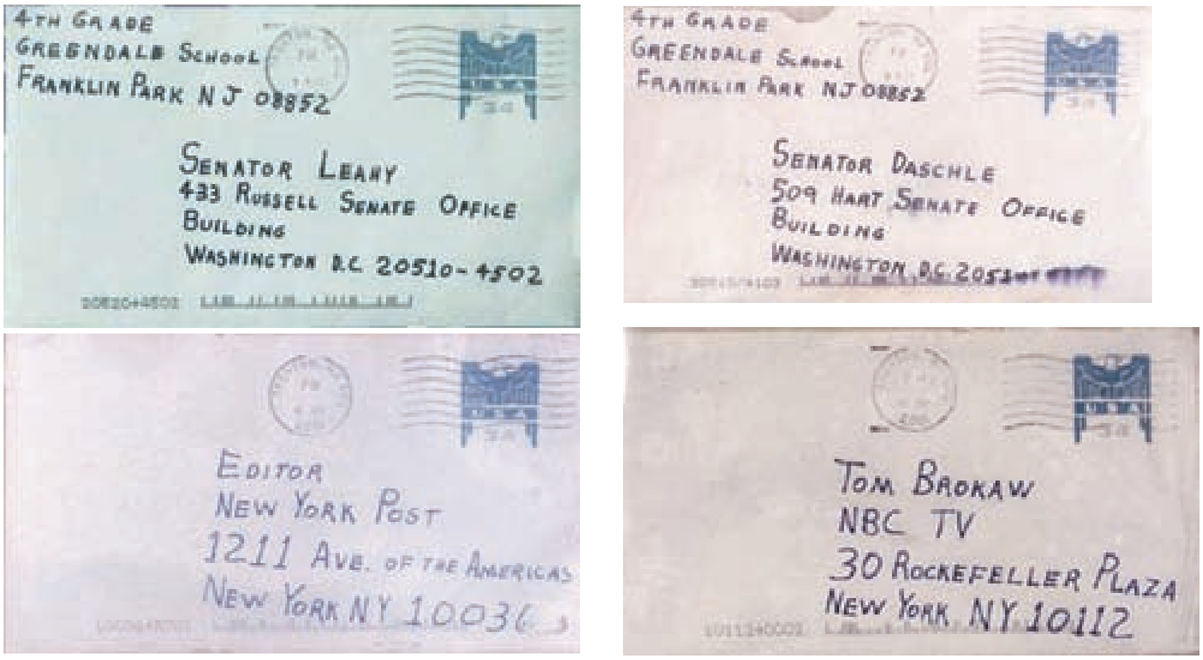
La tuberculosis es una enfermedad reemergente que ahora recibe considerable atención. Hace 15 años, las autoridades de salud pública estaban convencidas de que la tuberculosis desaparecería pronto como problema importante de salud pública en Estados Unidos. Luego, a causa de una serie de sucesos, como la epidemia de SIDA y el aumento de la cantidad de personas inmunosuprimidas por otras causas, algunas cepas del bacilo de la TB se hicieron resistentes a la batería de antibióticos que solía utilizarse para combatir esta enfermedad. Después estos individuos transmitieron cepas nuevas de *M. tuberculosis*

- La **inhalación** causa una enfermedad grave del tipo de la gripe con mortalidad elevada a menos que se diagnostique y trate de inmediato con antibióticos como penicilina, doxiciclina o ciprofloxacina.
- La exposición **cutánea** resulta en lesiones de la piel con una costra negra profunda característica. El carbunco cutáneo tiene mortalidad de 20% si se deja sin tratamiento, pero suele responder a los antibióticos.
- La exposición **gastrointestinal** produce úlceras en el íleon o el ciego, diarrea sanguinolenta y sepsis, y casi siempre es letal a causa de las dificultades para diagnosticarla.

Bacillus anthracis es particularmente mortífero porque forma esporas que son muy estables al calor, la desecación, la luz del sol y otros factores que en condiciones normales limitan la viabilidad de los agentes patógenos. Es hasta cierto punto simple inducir la formación de esporas, y son éstas las que se utilizan en las armas biológicas. Estudios efectuados con primates sugieren que la inhalación de 2 500 a 55 000 esporas producirá enfermedad letal, aunque el número es motivo de controversias. Las víctimas pueden manifestar síntomas como los de la gripe; la radiografía de tórax revelará el ensanchamiento característico del mediastino, y los frotis de sangre contendrán bacilos grampositivos. Como el diagnóstico y el tratamiento inmediatos son imperativos para la supervivencia, resulta esencial que el personal médico reconozca la enfermedad.

Aunque existe una vacuna contra el carbunco, su empleo se limita a personal militar. El preparado actual es un filtrado de cultivos de una cepa de *B. anthracis* no formadora de esporas. Las vacunas recién propuestas se elaboraron con base en la información obtenida de los estudios básicos de los mecanismos a los que este microorganismo recurre para infectar las células del hospedador, así como en los conocimientos de la estructura y la función de las proteínas derivadas de esta bacteria. La principal proteína que participa en la infección es el llamado antígeno protector, o PA, que se acopla al factor de edema (EF) o factor letal (LF) para causar infección productiva. Están en desarrollo anticuerpos que atacan el sitio de fijación sobre el PA para el LF o el EF como siguiente generación de vacunas contra el carbunco.

La amenaza de los agentes selectos del bioterrorismo, lo mismo que la de las enfermedades emergentes, se enfrenta prestando atención cuidadosa a los sucesos infecciosos inusuales y mediante la intensificación del estudio de los agentes que son susceptibles de convertirse en armas biológicas. La investigación para determinar la eficacia de diversos tratamientos y las ventanas de inmunidad que resultan de la administración de antitoxinas se convirtieron en prioridad máxima en Estados Unidos después de los acontecimientos del 11 de septiembre de 2001.



4TH GRADE
GREENDALE SCHOOL
FRANKLIN PARK NJ 08852

SENATOR LEAHY
433 RUSSELL SENATE OFFICE
BUILDING
WASHINGTON D.C. 20510-4502

4TH GRADE
GREENDALE SCHOOL
FRANKLIN PARK NJ 08852

SENATOR DASCHLE
509 HART SENATE OFFICE
BUILDING
WASHINGTON D.C. 2051[illegible]

EDITOR
NEW YORK POST
1211 AVE. OF THE AMERICAS
NEW YORK NY 10036

TOM BROKAW
NBC TV
30 ROCKEFELLER PLAZA
NEW YORK NY 10112

Cartas que contenían esporas de *Bacillus anthracis* enviadas a congresistas y agencias de noticias. *[Cortesía del Federal Bureau of Investigation.]*

resistentes a los antibióticos a otros. Aunque la tasa de infección por *M. tuberculosis* en Estados Unidos aumentó de manera aguda durante los primeros años del decenio de 1990, en 1995 su incidencia empezó a disminuir una vez más. No obstante, la incidencia mundial de esta enfermedad sigue en aumento y la Organización Mundial de la Salud pronostica que, entre 1998 y 2020, mil millones más de personas adquirirán la infección y unos 70 millones morirán a causa de ella si no se adoptan medidas preventivas.

La difteria es otra enfermedad reemergente. En los últimos años era casi inexistente en Europa gracias a la vacunación; sin embargo, en 1994 se informaron casos diseminados en algunas de las repúblicas de la antigua Unión Soviética. En 1995 se notificaron más de 50 000 casos en la misma región y miles fallecieron por difteria. Sin duda el cataclismo y la inestabilidad sociales que siguieron a la desintegración de la Unión Soviética fueron factores de primera importancia en la reaparición de esta enfermedad a causa de los lapsos que transcurrieron sin medidas de salud pública. Quizá lo más importante fue la pérdida de los programas de inmunización. Estos programas se restablecieron a partir de 1995 y la tendencia se revirtió, con notificación de sólo 13 687 casos en las repúblicas rusas en 1996, 6 932 en 1998 y 1 573 en 2000.

Otras enfermedades letales han aparecido recientemente

Otras enfermedades han surgido al parecer de la nada y, hasta donde se sabe, son causadas por nuevos patógenos. Entre ellos se encuentran el muy publicitado virus Ébola y *Legionella pneumophilia,* la bacteria causante de la enfermedad de los legionarios. La fiebre de Ébola fue reconocida después de un brote ocurrido en África en 1976, y recibió mucha atención debido a la gravedad del trastorno y el rápido avance a la muerte después del inicio de los síntomas. Hacia 1977, el virus causante se había aislado y clasificado como un filovirus, un tipo de virus de RNA que incluye el igualmente letal virus Marburg, un pariente cercano del Ébola. Ébola ocasiona una fiebre hemorrágica particularmente grave que mata a más de 50% de los individuos infectados. Sin embargo, aunque el riesgo de muerte es muy elevado después de la infección, es muy fácil controlar la diseminación del virus aislando a los individuos afectados, un protocolo que ha sido eficaz para contener el virus durante los dos brotes más recientes.

La enfermedad de los legionarios es una neumonía virulenta informada por primera vez en 221 individuos que asistían a una convención de la American Legion celebrada en Filadelfia en 1976. De las 221 personas afectadas, 34 fallecieron a causa de la infección. El microorganismo causante de esta enfermedad no se conocía, pero la investigación ulterior condujo a la identificación de una bacteria que se denominó *Legionella pneumophilia.* Esta bacteria prolifera en sitios fríos y húmedos, y puede encontrarse en las unidades de condensación de los grandes sistemas comerciales de aire acondicionado. La infección puede dispersarse cuando tales sistemas emiten un aerosol que contiene las bacterias, como ocurrió en la convención de 1976 en Filadelfia. Con base en el reconocimiento del peligro que estos aerosoles plantean, en la actualidad el diseño mejorado de los sistemas de aire acondicionado y de plomería reduce de manera notable el peligro de esta enfermedad.

En 1999 emergió un nuevo virus en el Hemisferio occidental. El virus del oeste del Nilo (o nilooccidental, por brevedad) se aisló por primera vez en Uganda en 1937, pero hasta 1999 no se encontraba fuera de África y en el occidente de Asia. En ese año se le detectó en la zona metropolitana de la ciudad de Nueva York, y hacia 2006 se habían detectado personas infectadas por él en todos los estados del territorio continental de la Unión Americana, salvo seis. El virus nilooccidental pertenece a los flavivirus, un grupo de virus que suelen ser diseminados por insectos, a menudo mosquitos. Su reservorio más frecuente son las aves; los cuervos son particularmente sensibles. El mosquito pica a un ave infectada, y más a menudo transmite el virus adquirido a otra ave al picarla. Sin embargo, en ocasiones pica a un ser humano y lo infecta. Como el virus nilooccidental no es transmisible de persona a persona, no puede contagiarse entre poblaciones humanas. Salvo en una pequeña proporción de seres humanos, la infección por este virus no produce enfermedad. El virus plantea un peligro para la salud sólo en el caso de individuos con deficiencia inmunitaria. Como en estos últimos puede cruzar la barrera hematoencefálica, entraña el peligro de originar encefalitis o meningitis que ponen en riesgo la vida, y éstas suelen ser las causas de la muerte. Entre 1999 y 2001 el virus nilooccidental produjo 18 defunciones y enfermedad a otros 131 sujetos; en 2004, los Centers for Disease Control de Estados Unidos contaban con informes de 2 539 casos de esta infección, con 100 muertes. Estas estadísticas indican que el virus nilooccidental se está diseminando y que debe vigilarse de manera estrecha. Los mecanismos actuales de control de salud pública incluyen la educación del público respecto al control de los mosquitos.

El brote de SARS desencadenó una rápida respuesta internacional

En noviembre de 2002, en la provincia de Guandong, China, se observó una neumonía atípica inexplicable. En los pocos meses siguientes, la enfermedad irrumpió en otras siete provincias al tiempo que se descubría que era resistente a cualquier terapia disponible. En febrero de 2003, un médico que había atendido a pacientes con esta enfermedad viajó a Hong Kong, enfermó a su vez e infectó a otros 16 huéspedes del hotel en que se alojaba. Éstos originaron un brote multinacional que duró hasta finales de mayo de 2003. Este brote de una enfermedad desconocida, incurable y potencialmente letal hizo que se establecieran asesorías para viajes, medidas de detección entre viajeros internacionales, y cuarentenas estrictas para quienes tuvieran contacto con individuos infectados. Cuando la enfermedad fue al fin contenida a través de estas extraordinarias medidas de salud pública, se habían informado 8 096 casos, con 774 muertes. Junto con la tragedia humana y la ansiedad provocada por la afección, denominada síndrome respiratorio agudo grave (SARS, del inglés *severe acute respiratory syndrome*), se estima que las pérdidas económicas alcanzaron cifras de decenas de miles de millones de dólares debido a la interrupción de los viajes y el comercio en Asia.

Una reacción rápida de la comunidad de investigación biomédica pronto identificó al agente etiológico del SARS como un coronavirus, así llamado en virtud de que las proteínas puntiagudas que emergen de éstos les dan el aspecto de corona (fig.

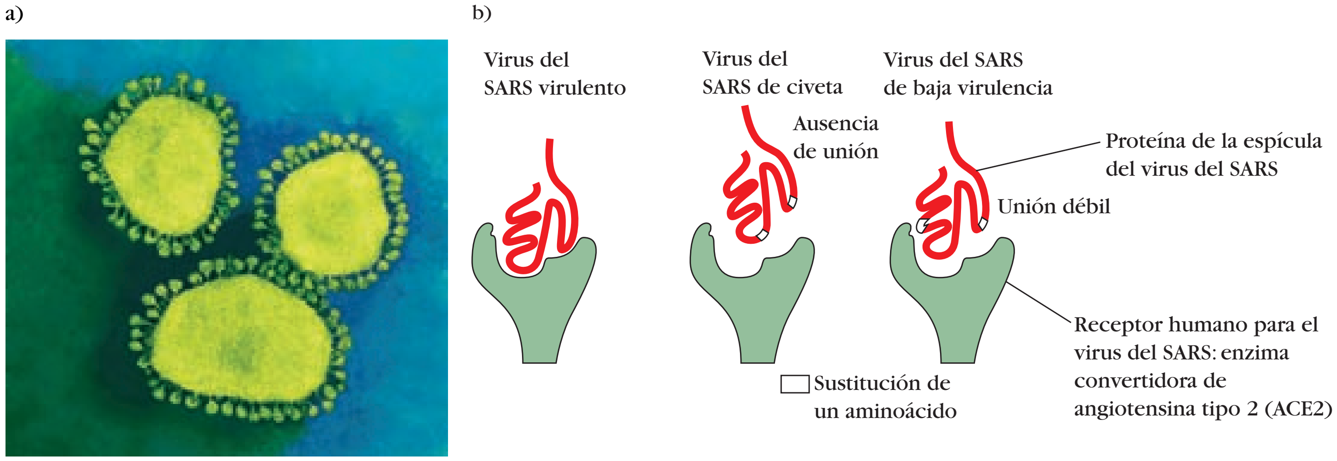

a)
b)
Virus del SARS virulento
Virus del SARS de civeta
Virus del SARS de baja virulencia
Ausencia de unión
Proteína de la espícula del virus del SARS
Unión débil
Receptor humano para el virus del SARS: enzima convertidora de angiotensina tipo 2 (ACE2)
☐ Sustitución de un aminoácido

FIGURA 18-15 Coronavirus que causó el brote de síndrome respiratorio agudo grave, o SARS. a) El virus está tachonado de espículas, que en un corte trasnsversal le dan el aspecto de una corona, de aquí su nombre. b) El receptor humano para el virus del SARS es la enzima convertidora de angiotensina tipo 2, o ACE2. La proteína de las espículas de la forma altamente virulenta del virus se une con gran afinidad a este receptor; los virus encontrados en la civeta y en una versión que causó enfermedad leve en el ser humano tienen dos sustituciones de aminoácido distintas en la proteína de la espícula. El virus del SARS de la civeta no se une al receptor humano, y la versión que causa enfermedad leve en nuestra especie se une 1 000 veces más débilmente que la forma más virulenta. *[Parte a de Dra. Linda Stannard, UCT/Photo Researchers; parte b adaptada de K. V. Holmes, 2005,* Science ***309:****1822.]*

18-15a). Los coronavirus del ser humano se conocen desde hace muchos años, pero la principal enfermedad humana atribuida a ellos era una forma de resfriado más bien leve. Sin embargo, la nueva variante nunca se había detectado en personas. Pronto se rastreó hasta el felino llamado civeta, cuando se descubrió que los primeros casos de SARS ocurrieron en comerciantes de animales. Datos más recientes sugieren que el murciélago podría ser el principal reservorio del coronavirus del SARS. Modelos animales desarrollados para las infecciones por este virus demostraron que los anticuerpos contra la proteína de las espículas externas podrían impedir la multiplicación del virus. Se propusieron varias posibles vacunas, y los ensayos comenzaron. Por fortuna, la temida epidemia del invierno siguiente no ocurrió, y no fue necesario repetir el masivo esfuerzo de salud pública.

Las preguntas candentes acerca del brote de SARS son: ¿Cómo realizó el virus el salto de un animal al ser humano, y cómo pudo propagarse tan rápidamente en la población humana? Las respuestas provienen de las estructuras obtenidas por cristalografía de rayos X de la proteína de las espículas del virus del SARS en contacto con su receptor, la enzima convertidora de angiotensina tipo 2 humana o ACE2. Mutaciones en dos aminoácidos de la proteína de las espículas del virus que hacen contacto con la ACE2 convirtieron el virus de la civeta en otro que se une 1 000 veces más estrechamente a la proteína humana. La importancia de esta afinidad de unión entre la proteína de la espícula y ACE2 es confirmada por el análisis de la secuencia de aminoácidos de un virus del SARS obtenido de un caso silvestre de la enfermedad. La proteína de la espícula de esta forma atenuada del virus tiene mutaciones en los residuos de unión claves, y se une débilmente a ACE2 (fig. 18-15b). La epidemia de SARS de 2003 constituye un ejemplo atemorizador de la rapidez con que la mutación de un patógeno puede llevar a éste a la población humana y de la potencial devastación resultante.

¿Por qué aparecen nuevas enfermedades y reaparecen otras? Una razón que las autoridades sanitarias sugieren es el hacinamiento en que viven las poblaciones más pobres en sitios muy reducidos del interior de las grandes ciudades. Otro factor es el gran incremento de los viajes internacionales: una persona puede infectarse en un continente y luego diseminar la enfermedad en otro continente el mismo día. La distribución e importación masivas de alimentos pueden exponer a grandes poblaciones a productos alimenticios que pueden estar contaminados. El uso indiscriminado de antibióticos en seres humanos y en aplicaciones veterinarias facilita el que los patógenos adquieran resistencia a los fármacos que suelen usarse contra ellos. Los cambios en el clima y los patrones del tiempo, junto con la expansión de las poblaciones humanas hacia dominios antes vírgenes de animales silvestres, introduce nuevos patógenos en las poblaciones humanas. La laxitud en el cumplimiento de los programas de vacunación propicia el resurgimiento de enfermedades que estaban casi erradicadas. La Organización Mundial de la Salud y los Centers for Disease Control vigilan de manera activa las nuevas infecciones y trabajan en colaboración estrecha para detectar e identificar nuevos agentes infecciosos, y ofrecer información actualizada a quienes viajan a los lugares del mundo en los que estas enfermedades reemergentes pueden representar un riesgo.

RESUMEN

- Las reacciones inmunitarias innatas constituyen la línea de defensa inicial contra los patógenos. Incluyen las barreras físicas, como la piel, así como la producción inespecífica de componentes del complemento, células fagocíticas y ciertas citocinas en respuesta a las infecciones por diversos patógenos.
- La reacción inmunitaria a las infecciones víricas comprende tanto el componente humoral como el mediado por células. Los virus mutan con rapidez y de este modo evaden la reacción de anticuerpo humoral.

- En general la reacción inmunitaria a las infecciones bacterianas extracelulares es mediada por anticuerpos. Éstos pueden activar la lisis de las bacterias mediada por complemento, neutralizar toxinas y funcionar como opsoninas para incrementar la fagocitosis. La defensa del hospedador contra las bacterias intracelulares depende en gran medida de las reacciones mediadas por células T $CD4^+$.
- Las reacciones inmunitarias tanto humorales como mediadas por células participan en la inmunidad a las infecciones por protozoarios. En general el anticuerpo humoral es eficaz contra las etapas del ciclo de vida de los protozoarios que se producen en la sangre, pero una vez que estos microorganismos infectan las células se requiere el otro mecanismo, el de inmunidad mediada por células, para combatirlos. Los protozoarios escapan a la reacción inmunitaria por diversos mecanismos.
- Los helmintos son grandes parásitos que en condiciones normales no se multiplican dentro de la célula. Como el individuo porta muy pocos de estos parásitos, su exposición al sistema inmunitario es limitada; en consecuencia sólo se induce un nivel bajo de inmunidad. Los helmintos suelen ser atacados por las defensas mediadas por anticuerpo.
- Las enfermedades causadas por hongos, o micosis, rara vez son graves en individuos sanos normales pero representan un problema mayor para los inmunodeficientes. Tanto la inmunidad innata como la adquirida controlan las infecciones por hongos ubicuos.
- El grupo de los agentes patógenos emergentes y reemergentes incluye algunos de descripción reciente y otros que se creía estaban controlados por las medidas de salud pública. Los factores que producen la aparición de estos agentes patógenos abarcan el incremento de los viajes y el hacinamiento intenso de algunas poblaciones.

Bibliografía

Alcami, A., and U. H. Koszinowski. 2000 Viral mechanisms of immune evasion. *Trends in Microbiology* **8:**410.

Bloom, B. R., ed. 1994. *Tuberculosis: Pathogenesis, Protection and Control.* ASM Press, Washington, DC.

Borst, P., et al. 1998. Control of VSG gene expression sites in *Trypanosoma brucei. Molecular and Biochemical Parasitology* **91:**67.

Casadevall, A. 2002. Passive antibody administration (immediate immunity) as a specific defense against biological weapons. *Emerging Infectious Diseases* **8:**833.

Doherty, P. C. 1997. Effector $CD4^+$ and $CD8^+$ T-cell mechanisms in the control of respiratory virus infections. *Immunological Reviews* **159:**105.

Kaufmann, S. H., A. Sher, and R. Ahmed, eds. 2002. *Immunology of Infectious Diseases.* ASM Press, Washington, DC.

Knodler, L. A., J. Celli, and B. B. Finlay. 2001. Pathogenic trickery: deception of host cell processes. *Nature Reviews Molecular Cell Biology* **2:**578-88.

Lamm, M. E. 1997. Interaction of antigens and antibodies at mucosal surfaces. *Annual Review of Microbiology* **51:**311.

Lane, H. C., et al. 2001. Bioterrorism: a clear and present danger. *Nature Medicine* **7:**1271.

Levitz, S. M. 2004. Interactions of Toll-like receptors with fungi. *Microbes and Infection* **6:**1351.

Li, F., et al. 2005. Structure of SARS coronavirus spike receptor-binding domain complexed with receptor. *Science* **309:**1864.

Lorenzo, M. E., H. L. Ploegh, and R. S. Tirabassi. 2001. Viral immune evasion strategies and the underlying cell biology. *Seminars in Immunology* **13:**1-9.

Merrell, D. S., and S. Falkow. 2004. Frontal and stealth attack strategies in microbial pathogenesis. *Nature* **430:**250.

Morens, D. M., G. K. Folkers, and A. S. Fauci. 2004. The challenge of emerging and re-emerging infectious diseases. *Nature* **430:**242.

Pestka, S., C. D. Krause, and M. R. Walter. 2004. Interferons, interferon-like cytokines and their receptors. *Immunological Reviews* **202:**8.

Rosenthal, S. R., et al. 2001. Developing new smallpox vaccines. *Emerging Infectious Diseases* **7:**920.

Schofield, L., and G. E. Grau. 2005. Immunological processes in malaria pathogenesis. *Nature Reviews Immunology* **5:**722.

Skowronski, D. M., et al. 2005. Severe acute respiratory syndrome. *Annual Review of Medicine* **56:**357.

Tumpey, T. M., et al. 2005. Characterization of the reconstructed 1918 Spanish influenza pandemic virus. *Science* **310:**77.

WHO Global Influenza Program Surveillance Network. 2005. Evolution of H5N1 avian influenza viruses in Asia. *Emerging Infectious Diseases* **11:**1515.

Sitios útiles de la red

http://www.cdc.gov/ncidod/

La página Web del National Center for Infectious Diseases es excelente para vigilar las enfermedades emergentes. Este centro es una subdivisión de los Centers for Disease Control (CDC), y en su página se encuentran enlaces con éstos.

http://www.niaid.nih.gov/

Página Web del National Institute of Allergy and Infectious Diseases: el NIAID es la rama del NIH que patrocina la investigación de las enfermedades infecciosas, y su página Web ofrece diversos enlaces con otras páginas relevantes.

http://www.who.int/

Página Web de la Organización Mundial de la Salud, la organización internacional que vigila las enfermedades infecciosas a nivel mundial.

http://www.upmc-biosecurity.org/

El sitio del Center for Biosecurity de la University of Pittsburgh proporciona información sobre agentes selectos y enfermedades emergentes que podrían constituir una amenaza a la seguridad.

Preguntas de estudio

PREGUNTA DE ENFOQUE CLÍNICO La inmunoglobulina contra la vaccinia (VIG) se emplea para tratar a los individuos que experimentan complicaciones después de la administración de la vacuna contra la viruela. ¿En qué sitio se obtiene la VIG y por qué su administración suele ser un tratamiento eficaz?

1. El efecto de los MHC sobre la reacción inmunitaria a los péptidos de la nucleoproteína del virus de la gripe se estudió en ratones H-2^b previamente inmunizados con viriones de la gripe vivos. La actividad de los CTL cebados se determinó mediante pruebas in vitro de estas células con fibroblastos H-2^k como células blanco. Estas células se transfectaron con genes H-2^b diferentes de MHC clase I y se infectaron con virus vivos de la gripe o se incubaron con péptidos nucleoproteínicos sintéticos. Los resultados de estas pruebas se ilustran en el cuadro adjunto.

Célula blanco (fibroblasto H-2^k)	**Antígeno de prueba**	**Actividad de CTL de los linfocitos H-2^b cebados contra la gripe (% de lisis)**
A) No transfectada	Virus vivo de la gripe	0
B) Transfectada con *D*^{b} clase I	Virus vivo de la gripe	60
C) Transfectada con *D*^{b} clase I	Péptido nucleoproteínico 365-380	50
D) Transfectada con *D*^{b} clase I	Péptido nucleoproteínico 50-63	2
E) Transfectada con *K*^{b} clase I	Péptido nucleoproteínico 365-380	0.5
F) Transfectada con *K*^{b} clase I	Péptido nucleoproteínico 50-63	1

a. ¿Por qué no ocurrió la muerte de las células blanco en el sistema A aunque las células estuvieran infectadas con virus vivo de la gripe?
b. ¿Por qué se generó una reacción de CTL contra la nucleoproteína del sistema C, aunque se trata de una proteína vírica interna?
c. ¿Por qué se presentó una buena reacción de CTL en el sistema C al péptido 365-380, en tanto que no hubo reacción en el sistema D al péptido 50-63?
d. Si usted fuera a desarrollar una vacuna peptídica sintética para prevenir la gripe en seres humanos, ¿de qué manera influirían en su diseño de la vacuna los resultados obtenidos en ratones?

2. Describa las defensas inespecíficas que operan cuando el microorganismo productor de la enfermedad ingresa por primera vez en el cuerpo.

3. Describa los diversos mecanismos específicos de defensa que el sistema inmunitario emplea para combatir los distintos agentes patógenos.

4. ¿Cuál es la función de la reacción humoral en la inmunidad contra la gripe?

5. Describa los mecanismos únicos que cada uno de los siguientes agentes patógenos posee para escapar de la reacción inmunitaria: a) tripanosomas africanos, b) especies de *Plasmodium* y c) virus de la gripe.

6. M. F. Good y sus colaboradores analizaron el efecto del haplotipo MHC sobre la reacción de anticuerpo contra un antígeno peptídico circunesporozoíto (CS) palúdico en diversas cepas recombinantes de ratón congénico. Sus resultados se ilustran en el cuadro adjunto.

Cepa	**Alelos H-2**					**Reacción de anticuerpo al péptido CS**
	K	**IA**	**IE**	**S**	**D**	
B10.BR	*k*	*k*	*k*	*k*	*k*	<1
B10.A (4R)	*k*	*k*	*b*	*b*	*b*	<1
B10.HTT	*s*	*s*	*k*	*k*	*d*	<1
B10.A (5R)	*b*	*b*	*k*	*d*	*d*	67
B10	*b*	*b*	*b*	*b*	*b*	73
B10.MBR	*b*	*k*	*k*	*k*	*q*	<1

FUENTE: Adaptado de M. F. Good et al., 1988, *Annu. Rev. Immunol.* **6:**633.

a. Con base en los resultados de este estudio, ¿cuál o cuáles moléculas de MHC sirven como elementos de restricción de este antígeno peptídico?

b. Puesto que el reconocimiento de antígeno por las células B no está restringido por el MHC, ¿por qué la reacción de anticuerpo humoral resulta influida por el haplotipo MHC?

7. Llene los espacios en blanco en las afirmaciones que siguen.

a. La vacuna actual contra la tuberculosis está constituida por una cepa atenuada de *M. bovis* que se denomina ________.
b. La variación de las proteínas de superficie de la gripe es generada por ________ y ________.
c. La variación de la pilina, expresada por muchas bacterias gramnegativas, se genera por el proceso de ________.
d. Las micobacterias productoras de la tuberculosis quedan tabicadas en lesiones granulomatosas denominadas ________, que contienen un número pequeño de ________ y un gran número de ________.
e. La vacuna de la difteria es un preparado de la exotoxina tratado con formaldehído, que se denomina ________.
f. Una contribución mayor a las defensas inespecíficas del hospedador contra los virus es la que ________ y ________ ofrecen.
g. La defensa primaria del hospedador contra la fijación vírica y bacteriana a las superficies epiteliales consiste en ______.
h. Dos citocinas de importancia particular para la reacción a la infección por *M. tuberculosis* son ________, que estimula el desarrollo de células T_H1, y ________, que promueve la activación de los macrófagos.

8. A pesar del hecho de que no existen vacunas autorizadas para ellas, las infecciones micóticas que ponen en peligro la vida no son un problema para la población general. ¿Por qué? ¿A quién podrían poner en riesgo?

9. Comente los factores que contribuyen a la aparición de nuevos agentes patógenos o a la reaparición de algunos que se consideraban controlados en las poblaciones humanas.

10. ¿Cuáles factores que favorecen el surgimiento de nuevas enfermedades contribuyeron al brote de SARS de 2003?

11. ¿Cuáles de las siguientes son estrategias usadas por los patógenos para evadir al sistema inmunitario? Para cada opción correcta dé un ejemplo específico.
    a. Modificación de los antígenos expresados en su superficie
    b. Fase latente en las células del hospedador
    c. Secreción de proteasas para desactivar anticuerpos
    d. Baja virulencia
    e. Desarrollo de resistencia a la lisis mediada por complemento
    f. Mutaciones puntuales en epítopos de superficie, de lo que resulta deriva antigénica
    g. Aumento de la capacidad fagocítica de los macrófagos

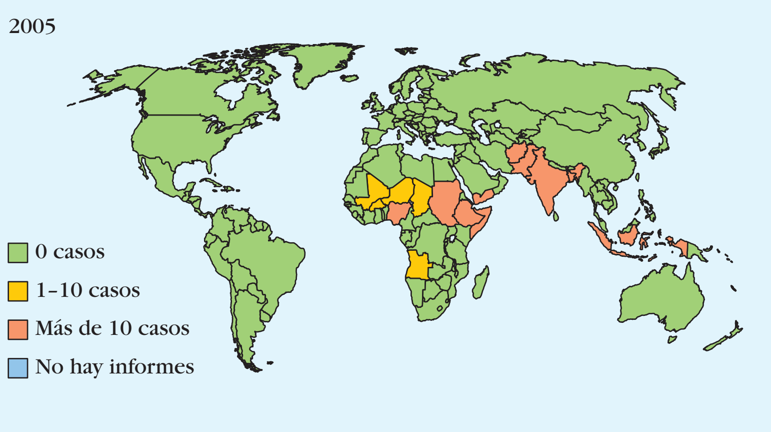
12. En varias pruebas diagnósticas se usa tecnología de ELISA para detectar infecciones específicas en sueros de pacientes. Por desgracia, a veces un ensayo para enfermedad de Lyme da un resultado positivo cuando el paciente está infectado por *Treponema pallidum* (el agente causal de la sífilis), pero no en caso de infección por *Borrelia burgdorferi*. Analice posibles explicaciones para tal resultado del ensayo.

13. ¿Cuál de las siguientes es una característica de la reacción inflamatoria contra infecciones bacterianas extracelulares?
    a. Aumento en las concentraciones de IgE
    b. Activación de células T CD8$^+$ autorreactivas
    c. Activación del complemento
    d. Tumefacción causada por liberación de vasodilatadores
    e. Desgranulación de mastocitos tisulares
    f. Fagocitosis por macrófagos

14. La madre del lector lo ha amonestado por correr afuera sin zapatos. Ella está en lo correcto, considerando el modo de transmisión del gusano redondo *Necator americanus*, o uncinaria.
    a. Si el lector desobedece a su madre y contrae el parásito, ¿cuáles células de su sistema inmunitario combatirían la infección?
    b. Si su doctor le administrara una citocina para estimular su sistema inmunitario, ¿cuál sería una buena elección, y cómo incidiría este suplemento en la maduración de las células plasmáticas para producir una clase de anticuerpo más útil?

capítulo 19

Vacunas



Casos de poliomielitis informados, 2005

- Inmunizaciones activa y pasiva
- Diseño de vacunas para inmunización activa
- Vacunas con microorganismos vivos atenuados
- Vacunas de microorganismos desactivados o muertos
- Vacunas subunitarias
- Vacunas conjugadas
- Vacunas de DNA
- Vacunas con vectores recombinantes

La disciplina de la inmunología tiene sus raíces en las primeras pruebas de vacunación que efectuaron Edward Jenner y Louis Pasteur. Desde esos esfuerzos pioneros se han desarrollado vacunas para muchas enfermedades que antes eran los grandes azotes del género humano. La incidencia de enfermedades como difteria, sarampión, paperas, tos ferina, rubéola (sarampión alemán), poliomielitis y tétanos ha disminuido en grado impresionante a medida que se ha extendido la vacunación contra esos padecimientos. No hay duda de que las vacunas son recursos eficaces en términos de costo para la prevención de enfermedades. Quizá en ningún otro caso han sido tan palpables los beneficios de la vacunación como en la erradicación de la viruela, uno de los flagelos más constantes y terribles de la humanidad. Desde octubre de 1977 no se ha informado en lugar alguno del mundo un caso de viruela adquirida de manera natural. Igual de alentadora es la erradicación esperada de la poliomielitis a través de programas de vacunación a gran escala. Este programa tuvo un grave retroceso debido a que la vacunación se suspendió en Nigeria y algunas regiones de India y Paquistán; en estos países, y otros a los que se propagó la enfermedad, notablemente Yemen e Indonesia, se produjeron brotes de poliomielitis paralítica luego de que la inmunización se interrumpió. Por fortuna, el programa está en marcha de nuevo, y la introducción de una nueva vacuna monovalente que produce inmunidad contra una sola cepa ha sido eficaz en regiones en que sólo circula esa cepa de polio. Una nueva adición al arsenal para el combate de las enfermedades de la infancia es la vacuna contra la neumonía bacteriana, causa importante de muerte en niños.

Aún se requieren con desesperación vacunas contra otras enfermedades. Cada año mueren en el mundo millones de personas a causa de paludismo, tuberculosis y SIDA, afecciones para las que no se cuenta con una vacuna eficaz. La Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que cada día se infectan 14 000 individuos por el VIH-1, virus causante del SIDA. Una vacuna eficaz tendría un inmenso efecto sobre el control de esta trágica causa diseminada de muerte y catástrofe humanas. Además de los desafíos planteados por las enfermedades para las que no existen vacunas, persiste la necesidad de mejorar la seguridad y la eficacia de las disponibles en la actualidad y encontrar modos de disminuir su costo y hacerlas llegar con eficiencia a todas las personas que las necesitan, en particular en países en vías de desarrollo. La OMS estima que millones de muertes infantiles en el mundo se deben a enfermedades que podrían prevenirse con las vacunas existentes (véase el enfoque clínico).

Es costoso, largo y tedioso el camino hasta el desarrollo de una vacuna que pueda aprobarse para la aplicación humana, manufacturarse a un costo razonable y embarcarse de manera eficiente a las poblaciones en riesgo. Son objeto de regulación estricta los procedimientos para la fabricación de materiales que pueden administrarse a seres humanos, y lo mismo se aplica a los protocolos para el ensayo de estos materiales en estudios clínicos. Incluso las vacunas candidatas que sobreviven al escrutinio inicial y se aprueban para efectuar estudios clínicos no cuentan con la garantía de llegar a la aplicación generalizada. La experiencia ha demostrado que no todas las vacunas candidatas que tuvieron buenos resultados en los estudios de laboratorio y en animales previenen la enfermedad en el ser humano. Algunas vacunas potenciales producen efectos adversos inaceptables, y algunas más pueden incluso empeorar los trastornos que deberían prevenir. Las vacunas de virus vivos representan una amenaza especial para quienes experimentan inmunodeficiencia primaria o adquirida (cap. 20). Es absolutamente necesaria la investigación con pruebas estrictas, ya que las vacunas se administran a grandes cantidades de

ENFOQUE CLÍNICO

Vacunación: desafíos en Estados Unidos y en países en desarrollo

Muchas enfermedades de la infancia antes frecuentes se observan rara vez en la actualidad en Estados Unidos, lo que es un testimonio de la eficacia que tiene la vacunación. Una barrera de primera importancia para conseguir buenos resultados en el resto del mundo es la dificultad para hacer llegar las vacunas a todos los niños. Sin embargo, aun Estados Unidos se ha convertido en víctima de sus propios resultados. Algunos padres que nunca han entrado en contacto con enfermedades casi desaparecidas en ese país no consideran importante hacer que sus hijos sean vacunados o no toman con la debida seriedad los programas recomendados de inmunización. Otros defienden la errónea creencia de que los riesgos que acompañan a la vacunación superan a los representados por las infecciones. Este razonamiento equivocado lo promueven las proclamas periódicas de las relaciones entre la vacunación y diferentes trastornos, como el informe que circuló en fecha reciente sobre una relación causal entre la vacunación y el autismo, trastorno cuyo origen se desconoce. En su mayor parte, estos informes se basan sólo en la coincidencia del momento de la vacunación y el inicio de una afección, o en limitaciones de muestreo y deficiencias de análisis estadístico. Hasta ahora ninguna de las supuestas relaciones ha soportado el escrutinio que abarcó grandes muestras de población y métodos estadísticos aceptables.

Aunque los niños de Estados Unidos están protegidos contra diversas enfermedades mortíferas de su época, esta protección depende de que se continúen los programas de inmunización. Atenerse a la inmunidad colectiva (la cual puede fallar) es peligroso para el individuo y la sociedad. En el caso de la vacuna contra la poliomielitis, se estima que se requiere una cobertura de 95% para romper la cadena de transmisión. Desde luego, las reacciones adversas a las vacunas deben examinarse de manera exhaustiva, y si una vacuna provoca reacciones adversas inaceptables, debe reconsiderarse su forma de administración. Al mismo tiempo, es necesario combatir los informes anecdóticos de enfermedades producidas por vacunas y las creencias sin fundamento, como la afirmación de que las vacunas debilitan el sistema inmunitario, mediante información correcta proveniente de fuentes confiables. Renunciar a los progresos logrados con la inmunización a causa de la desconfianza devolverá al género humano a la época en que sarampión, paperas, tos ferina y poliomielitis eran parte del riesgo de crecer.

Los niños de los países en vías de desarrollo sufren un problema distinto de los que habitan en Estados Unidos. La revisión de las muertes infantiles a nivel mundial indica que las vacunas existentes podrían salvar las vidas de millones de niños. Existen vacunas eficaces y seguras para cinco de los 10 azotes principales de la infancia (cuadro adjunto). Aunque la lista de enfermedades en el cuadro comprende VIH, TB y paludismo, padecimientos para los que no se dispone de vacunas, la administración de las que se recomiendan para los lactantes de Estados Unidos podrían disminuir la mortalidad infantil en el mundo hasta cerca de la mitad.

¿Qué barreras existen para lograr la vacunación mundial y completar la erradicación de muchas enfermedades de la infancia? La incapacidad de conseguir niveles más elevados de vacunación incluso en Estados Unidos es una indicación de las dificultades para consumar esta tarea. Incluso si se supone que se han desarrollado vacunas adecuadas y que la observancia de su aplicación es universal, la capacidad de producir y enviar las vacunas a todas partes es un enorme desafío. La Organización Mundial de la Salud (OMS) ha declarado que la vacuna ideal debería tener las siguientes propiedades:

- Accesible en todo el mundo.
- Termoestable.
- Eficaz después de una sola dosis.
- Aplicable a diversas enfermedades.
- Suministrable por vía mucosa.
- Adecuada para su administración al principio de la vida.

Pocas vacunas empleadas en la actualidad, en el mejor de los casos, satisfacen todas estas propiedades. Sin embargo, los objetivos de la OMS pueden orientar a los investigadores en la búsqueda de vacunas útiles para su aplicación en todo el mundo, y sirven para establecer prioridades, en particular para crear las vacunas que más necesitan los países en desarrollo. Por ejemplo, una vacuna contra VIH/SIDA que satisfaga los criterios de la OMS tendría un efecto inmediato sobre la epidemia mundial de SIDA.

La inmunización salva millones de vidas, y cada vez se dispone de más vacunas viables. El desafío para la comunidad de investigación biomédica consiste en desarrollar formas mejores, más seguras, más económicas y más fáciles de administrar para que la inmunización mundial se convierta en una realidad.

Defunciones anuales estimadas a nivel mundial de niños menores de cinco años por edad y patógeno causante

Patógeno	Defunciones (miles)
Pneumococcus	841
Sarampión	530
Haemophilus (cepas a-f)[†]	945
Rotavirus[†]	800
Paludismo	700
VIH	500
RSV	500
Tos ferina[*]	285
Tétanos	201
Tuberculosis	100

[*] Para los patógenos indicados en negritas se dispone de una vacuna.

[†] Se investigan los posibles efectos adversos de una vacuna autorizada.

FUENTE: Datos de publicaciones de la OMS.

personas sanas. Los efectos adversos, incluso los que ocurren con una frecuencia muy baja, deben ponderarse contra el beneficio potencial de la protección conferida por la vacuna.

El desarrollo de una vacuna se inicia con investigación básica. Progresos recientes en inmunología y biología molecular han culminado en la elaboración de nuevas vacunas eficaces y la institución de medidas promisorias para encontrar nuevas vacunas candidatas. La identificación de las diferencias en los epítopos reconocidos por las células T y B ha permitido a los inmunólogos empezar a diseñar vacunas candidatas para maximizar la activación tanto de inmunorreacciones celulares como humorales. Conforme se revelaron las diferencias en las vías de procesamiento de los antígenos, los científicos empezaron a diseñar vacunas y utilizar materiales coadyuvantes con la finalidad de llevar al máximo la presentación de los antígenos con moléculas de MHC de la clase I o II. Pueden emplearse técnicas de ingeniería genética para desarrollar vacunas que maximicen la reacción inmunitaria contra epítopos seleccionados y simplificar su administración. En este capítulo se describen las vacunas usadas en la actualidad y las medidas de vacunación, incluyendo diseños experimentales que podrían tener como resultado la creación futura de nuevas vacunas.

Inmunizaciones activa y pasiva

Se puede lograr inmunidad contra los microorganismos infecciosos mediante **inmunización** activa o pasiva. En cada caso la inmunidad se adquiere por procesos naturales (por lo general transferencia desde la madre hacia el feto o infección previa por el patógeno) o por medios artificiales como inyección de anticuerpos o vacunas (cuadro 19-1). Los agentes empleados para inducir inmunidad pasiva son anticuerpos de seres humanos o animales, en tanto que la inmunización activa se logra al inocular agentes microbianos que inducen inmunidad, pero no causan enfermedad, o componentes antigénicos de esos microorganismos. En esta sección se describe el empleo actual de las técnicas de inmunizaciones pasiva y activa.

CUADRO 19-1 Adquisición de inmunidad activa y pasiva

Tipo	Adquirida por
Inmunidad pasiva	Anticuerpo materno natural Inmunoglobulina* Anticuerpo monoclonal humanizado Antitoxina†
Inmunidad activa	Infección natural Vacunas‡ Microorganismos atenuados Microorganismos desactivados Macromoléculas microbianas purificadas Antígenos microbianos clonados Expresados como proteínas recombinantes Como DNA clonado solo o en vectores víricos Complejos multivalentes Toxoide§

*Solución que contiene anticuerpo derivado de sangre humana y obtenido mediante fraccionamiento frío en etanol de grandes reservas de plasma; disponible en preparados para inyecciones intramuscular e intravenosa.

†Anticuerpo derivado del suero de animales estimulados con antígenos específicos.

‡Suspensión de microorganismos vivos atenuados o muertos, o porciones antigénicas de éstos, que se presentan a un hospedador potencial para inducir inmunidad y prevenir la enfermedad.

§Toxina bacteriana modificada para que no sea tóxica, sin perder la capacidad de estimular la formación de antitoxina.

La inmunización pasiva consiste en la transferencia de anticuerpos preformados

Se reconoce a Edward Jenner y Louis Pasteur como los iniciadores de la vacunación, o la inducción de inmunidad activa, pero se debe un reconocimiento similar a Emil von Behring e Hidesaburo Kitasato por sus contribuciones a la inmunidad pasiva. Estos investigadores fueron los primeros en demostrar que la inmunidad desencadenada en un animal podía transferirse a otro si se le inyectaba suero del primero (véase el enfoque clínico del cap. 4).

La inmunización pasiva, en la que se transfieren anticuerpos preformados a un receptor, se produce de manera natural con la transferencia de anticuerpos maternos a través de la placenta hacia el feto en desarrollo. Éste adquiere pasivamente de los anticuerpos maternos protección contra difteria, tétanos, estreptococos, rubéola, sarampión, paperas y poliovirus. Los anticuerpos maternos que se encuentran en el calostro y la leche ofrecen también inmunidad pasiva al lactante.

Asimismo, se confiere inmunización pasiva al inyectar al receptor anticuerpos preformados. En el pasado, antes de contar con vacunas y antibióticos, la inmunización pasiva ofrecía una defensa de primera importancia contra diversas enfermedades infecciosas. A pesar de los riesgos (cap. 16) de inyectar suero de animales, en particular de caballo, éste era el único tratamiento eficaz para trastornos por lo demás mortales. En la actualidad son varios los padecimientos que justifican el empleo de la inmunización pasiva, incluidos los siguientes:

- Deficiencia de la síntesis de anticuerpo como resultado de defectos congénitos o adquiridos de la célula B, de manera aislada o en conjunto con otras inmunodeficiencias.
- Exposición comprobada o probable a una enfermedad capaz de ocasionar complicaciones (p. ej., un niño con leucemia expuesto a varicela o sarampión) o imposibilidad de suministrar la protección adecuada mediante inmunización activa.
- Infección por microorganismos patógenos cuyos efectos pueden contrarrestarse con anticuerpo. Por ejemplo, si los individuos que no han recibido inmunización activa actualizada contra el tétanos sufren una herida punzante, reciben una inyección de suero equino contra la toxina tetánica. El anticuerpo preformado por el caballo neutraliza cualquier cantidad de toxina elaborada por *Clostridium tetani* en la herida.

Se administra inmunización pasiva de manera sistemática a los individuos expuestos a botulismo, tétanos, difteria, hepatitis, sarampión y rabia (cuadro 19-2), y puede ofrecer protección inmediata a viajeros y prestadores de servicios de salud que en fecha próxima estarán expuestos a un microorganismo infeccioso y que carecen de inmunidad activa contra éste. Se emplea también antisuero administrado de manera pasiva para ofrecer protección contra venenos de serpientes y de artrópodos. Como la inmunización pasiva no activa el sistema inmunitario, no precipita una reacción de memoria y la protección que ofrece es transitoria.

CUADRO 19-2 Agentes de uso común en inmunización pasiva

Enfermedad	Agente
Mordedura de araña viuda negra	Antiveneno de caballo
Botulismo	Antitoxina de caballo
Citomegalovirus	Ab policlonal humano
Difteria	Antitoxina de caballo
Hepatitis A y B	Inmunoglobulina humana acumulada
Sarampión	Inmunoglobulina humana acumulada
Rabia	Ab policlonal humano o equino
Enfermedad respiratoria	Anti-RSV* monoclonal
Mordedura de serpiente	Antiveneno de caballo
Tétanos	Inmunoglobulina humana acumulada o antitoxina de caballo
Virus de varicela-zoster	Ab policlonal humano

*Virus sincicial respiratorio.

FUENTE: Adaptado de A. Casadevall, 1999, *Clinical Immunology* **93**:5.

En el caso de ciertas enfermedades, como la insuficiencia respiratoria producida en niños por el virus sincicial respiratorio (RSV), la inmunización pasiva es la mejor medida preventiva disponible en la actualidad. Se pueden suministrar un anticuerpo monoclonal o una combinación de dos anticuerpos monoclonales a los niños que están en riesgo de sufrir enfermedad por RSV. Estos anticuerpos monoclonales se elaboran en ratones, pero se han "humanizado" mediante inserción de las regiones constantes de la IgG humana en las regiones variables del ratón (cap. 5). Tal modificación impide muchas de las complicaciones que pueden ocurrir después de una segunda inyección del anticuerpo murino completo, que es una proteína extraña muy inmunógena.

Aunque la inmunización pasiva puede ser una medida terapéutica eficaz, debe emplearse con precaución porque la inyección de un anticuerpo preformado entraña ciertos riesgos. Si el anticuerpo se produjo en otra especie, como el caballo, el receptor puede activar una intensa reacción contra los determinantes isotípicos del anticuerpo extraño. Esta reacción antiisotípica puede producir graves complicaciones. Por ejemplo, algunos individuos producen anticuerpo IgE específico para factores determinantes contenidos en el anticuerpo inyectado. Los complejos inmunitarios de esta IgE fijada al anticuerpo administrado de manera pasiva pueden mediar la desgranulación de los mastocitos del cuerpo y provocar anafilaxis sistémica. Otros individuos producen anticuerpos IgG o IgM específicos contra el anticuerpo extraño, que forman complejos inmunitarios activadores del complemento. El depósito de estos complejos en los tejidos puede tener como consecuencia reacciones de hipersensibilidad del tipo III. Incluso cuando se administra gammaglobulina humana de manera pasiva, el receptor puede precipitar una reacción antialotípica contra la inmunoglobulina humana, aunque su intensidad suele ser mucho menor que la de una reacción antiisotípica.

La inmunización activa confiere protección prolongada

Mientras que la finalidad de la inmunización pasiva es la protección transitoria o el alivio de un trastorno existente, la de la inmunización activa es conferir inmunidad protectora y memoria inmunitaria. Cuando la inmunización activa tiene buenos resultados, la exposición subsecuente al agente patógeno desencadena una reacción inmunitaria intensificada que lo elimina con eficacia o previene la enfermedad mediada por sus productos. Se puede lograr inmunización activa con la infección natural por un microorganismo, o adquirirse de manera artificial mediante administración de una **vacuna** (cuadro 19-1). En la inmunización activa, como su nombre lo indica, el sistema inmunitario participa de manera activa: la proliferación de células T y B reactivas con antígeno da lugar a la formación de células de memoria. La inmunización activa con diversos tipos de vacunas ha desempeñado un papel de primera importancia para reducir las defunciones por enfermedades infecciosas, en especial entre niños.

La vacunación de los niños se inicia cerca de los dos meses de edad. En el cuadro 19-3 se describe el programa recomendado de inmunizaciones infantiles en Estados Unidos actualizado en 2006 por la American Academy of Pediatrics. El programa incluye las siguientes vacunas:

- Vacuna de la hepatitis B.
- Vacuna combinada de difteria, tos ferina (acelular) y tétanos (DPaT).
- Vacuna de *Haemophilus influenzae* (Hib).
- Vacuna desactivada contra la poliomielitis (Salk, IPV); ya no se recomienda la vacuna oral (Sabin) en Estados Unidos.
- Vacuna combinada de sarampión, paperas y rubéola (MMR).
- Vacuna de varicela zoster (Var) para varicela.
- Vacuna meningocócica (recomendada a los 24 meses para grupos de alto riesgo; a los 11 a 12 años para todos los niños).
- Vacuna neumocócica conjugada (PCV).
- Vacuna contra la gripe (ahora recomendada para niños de seis a 23 meses de edad).
- Vacuna de la hepatitis A.

Ahora se recomienda la vacuna de la hepatitis A para todos los niños de 12 a 23 meses de edad; antes se administraba sólo a los lactantes de poblaciones de alto riesgo. De modo similar, las vacunas contra la gripe antes se recomendaban para niños con determinados factores de riesgo como asma o inmunodeficiencias, pero en la actualidad se recomienda la vacunación anual de niños sanos con base en el mayor riesgo de hospitalización relacionada con gripe en este grupo de edad. La nueva lista de recomendaciones también incluye una valoración de la inmunidad contra las principales enfermedades de la niñez entre los 11 y 12 años de edad, y actualización de inmunizaciones para quienes las requieran.

CUADRO 19-3 Programa de inmunización infantil recomendado en Estados Unidos, 2006

	Edad									
Vacuna*	Nacimiento	1 mes	2 meses	4 meses	6 meses	12 meses	15 meses	18 meses	24 meses	4-6 años
Hepatitis B	•	←•	→		←	•	—	→		
Difteria, tétanos, tos ferina			•	•	•		←	•→		•
Haemophilus influenzae tipo b			•	•	•	←•	→			
Virus de la poliomielitis desactivado			•	•	←	•	—	→		•
Sarampión, paperas, rubéola						←•	→			•
Varicela						←	•	→		
Conjugado neumocócico			•	•	•	←•	→			
Gripe				(Anualmente)	•	•	•	•	•	•
Hepatitis A				(Dos dosis a un intervalo mínimo de seis meses)		←	• ←	— —	— •	→ →

←•→ Las flechas indican el intervalo durante el cual se recomienda una inmunización.

*Este programa indica las edades recomendadas para la administración sistemática de las vacunas autorizadas hoy día para la infancia. Cualquier dosis no administrada a la edad recomendada debe aplicarse como "actualización" en cualquier consulta ulterior.

FUENTE: Adaptado de la página de Internet de los CDC; aprobado por la American Academy of Pediatrics.

La introducción y el empleo generalizado de diversas vacunas para la inmunización durante la infancia ha reducido en grado impresionante la incidencia de las enfermedades infantiles frecuentes en Estados Unidos (fig. 19-1). Las comparaciones de la incidencia de la enfermedad en 1999 con la informada durante los años en que ésta alcanzó su nivel máximo ponen de manifiesto reducciones espectaculares y, en un caso, eliminación completa de la afección en Estados Unidos. En tanto se mantengan los programas generalizados de inmunización eficaz, debe seguir siendo mínima la incidencia de estos padecimientos de la infancia. Sin embargo, la ocurrencia de reacciones adversas a una vacuna puede llevar a reducir su empleo, lo que representa el peligro de que reaparezca esa afección. Por ejemplo, los efectos adversos de la vacuna bacteriana atenuada de la tos ferina consisten en convulsiones, encefalitis, lesión cerebral o incluso muerte. El empleo disminuido de la vacuna tuvo como consecuencia el aumento de la incidencia de tos ferina, con aparición de 18 957 casos en 2004. Se espera que esta tendencia se revierta con el desarrollo reciente de una vacuna de la tos ferina acelular, tan eficaz como la anterior pero sin sus efectos adversos.

Como se indica en el cuadro 19-3, los niños requieren de manera característica refuerzos múltiples (inoculaciones repetidas) a intervalos apropiados para lograr una inmunidad eficaz. Durante los primeros meses de la vida el motivo puede ser la persistencia de anticuerpos maternos circulantes en el lactante. Por ejemplo, los anticuerpos maternos adquiridos de manera pasiva se fijan a epítopos contenidos en la vacuna DPT y bloquean la activación adecuada del sistema inmunitario; por lo anterior, esta vacuna debe administrarse varias veces después que el anticuerpo materno desaparece de la circulación del lactante con objeto de lograr inmunidad adecuada. El anticuerpo adquirido de manera pasiva interfiere también en la eficacia de la vacuna del sarampión; es por esto que no se administra la vacuna MMR antes de los 12 a 15 meses de edad. Sin embargo, en los países del Tercer Mundo la vacuna del sarampión se administra a los nueve meses, aunque el lactante tenga aún anticuerpos maternos, ya que 30 a 50% de los niños pequeños de esos países contrae la enfermedad antes de los 15 meses de edad. Se requieren inmunizaciones múltiples con la vacuna de la poliomielitis para garantizar que se genere una reacción inmunitaria adecuada contra cada una de las tres cepas del virus que constituyen la vacuna.

Las recomendaciones para la vacunación de adultos dependen del grupo de riesgo. Se administran a menudo las vacunas de meningitis, neumonía y gripe a los miembros de los grupos que habitan en sitios cerrados (p. ej., reclutas militares y estudiantes de recién ingreso a educación superior) y los sujetos que tienen atenuada la inmunidad (p. ej., ancianos). Según sea su destino, los viajeros internacionales se inmunizan también de manera sistemática contra enfermedades endémicas, como cólera, fiebre amarilla, peste, tifoidea, hepatitis, meningitis, tifo y poliomielitis. Se ha reservado la inmunización contra la mortífera enfermedad carbunco sintomático (llamada ántrax en los países de habla inglesa, producida por *Bacillus anthracis*) para los trabajadores que entran en contacto estrecho con animales infectados o productos derivados de éstos. No obstante, en fecha reciente la sospecha de empleo de esporas de este bacilo por terroristas o en armas biológicas ha extendido el uso de la vacuna al personal militar y a civiles en regiones en riesgo de ataque con este mortífero agente.

La vacunación no es por completo eficaz. Con cualquier vacuna un pequeño porcentaje de los receptores reacciona mal y, por este motivo, no quedan protegidos de la manera apropiada. Éste no es un problema grave si la mayor parte de la población es

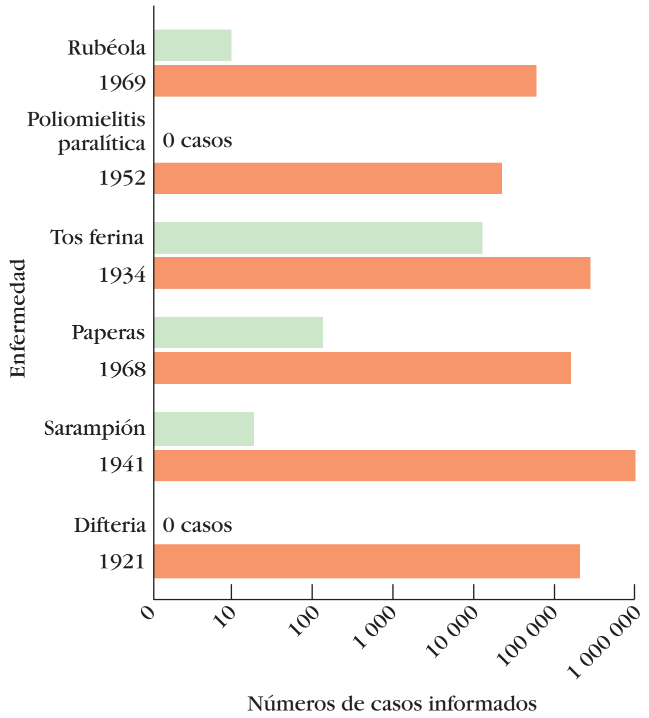


FIGURA 19-1 Números anuales notificados de casos de rubéola (sarampión alemán), poliomielitis, tos ferina, paperas, sarampión y difteria en Estados Unidos en el año en que alcanzó su máximo la cantidad de datos disponibles (anaranjado) en comparación con el número de casos de cada enfermedad en 2004 (verde). En la actualidad se dispone de vacunas para cada una de estas enfermedades y se recomienda la vacunación para todos los niños de Estados Unidos. *[Datos obtenidos de Centers for Disease Control.]*

inmune al agente infeccioso en cuestión. En este caso, la posibilidad de que un individuo susceptible haga contacto con un sujeto infectado es tan baja que es probable que el primero no contraiga la infección. Este fenómeno se conoce como *inmunidad colectiva.* Las epidemias del sarampión entre estudiantes universitarios y niños preescolares no vacunados en Estados Unidos durante la segunda mitad del decenio de 1980 fue resultado, en parte, de una disminución global de las inmunizaciones que había mermado la inmunidad colectiva de la población (fig. 19-2). Entre los preescolares, 88% de los que desarrollaron sarampión no estaba vacunado. Casi todos los estudiantes universitarios que contrajeron esta enfermedad se habían vacunado en la infancia, pero sólo una vez; el fracaso de la vacunación única para protegerlos pudo deberse a la presencia de anticuerpos maternos adquiridos de manera pasiva que redujeron su reacción global a la vacuna. El aumento de la incidencia del sarampión hizo que se recomendara que los niños recibieran dos inmunizaciones con la vacuna combinada de sarampión, paperas y rubéola, la primera vez entre los 12 y los 15 meses de edad y la segunda entre los cuatro y seis años.

Los Centers for Disease Control (CDC) han llamado la atención sobre el descenso de las vacunaciones y la inmunidad colectiva entre los niños estadounidenses. Por ejemplo, en una publicación de 1995 se informó que en California no estaban vacunados alrededor de un tercio de todos los niños, y que aproximadamente la mitad de los menores de dos años de edad tiene un retraso en su programa de vacunación. Tal decremento de la inmunidad colectiva plantea graves consecuencias, como lo ilustran los sucesos recientes en los nuevos estados independientes de la ex Unión Soviética. Hacia mediados del decenio de 1990 tuvo efectos arrasadores una epidemia de difteria en muchas regiones de estos nuevos países, relacionada con descenso de la inmunidad colectiva resultante de las tasas mermadas de vacunación después de que se desintegrara la URSS. Esta epidemia, que se caracterizó por alrededor de 157 000 casos de difteria y unas 5 000 defunciones por esta causa, se encuentra bajo control en la actualidad mediante programas de inmunización masiva.

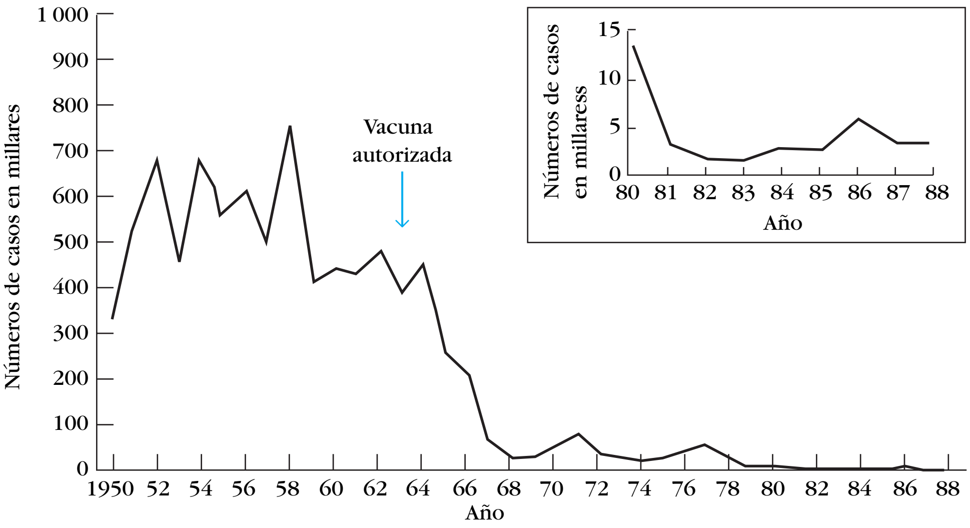


FIGURA 19-2 La introducción de la vacuna del sarampión en 1962 produjo un decremento impresionante de esta enfermedad en Estados Unidos. Hubo brotes ocasionales de esta afección en el decenio de 1980 (*recuadro*), sobre todo entre niños pequeños no vacunados y estudiantes universitarios; en su mayor parte estos últimos habían recibido la vacuna, aunque sólo una vez, cuando eran pequeños. *[Datos obtenidos de Centers for Disease Control.]*

Diseño de vacunas para inmunización activa

La mayoría de las infecciones son enfrentadas por mecanismos inmunitarios inespecíficos o innatos, en los que participan complemento, interferones, células NK, fagocitos activados, compuestos antimicrobianos y otros componentes. La inmunorreacción adaptativa proporciona un tipo de resistencia más flexible a los patógenos. La vacunación "educa" al sistema inmunitario adaptativo, preparándolo para enfrentar de manera eficaz y rápida a patógenos que no son eliminados fácilmente por la inmunidad innata.

Deben tenerse presentes algunos factores para llegar a una vacuna eficaz. En primer lugar, el desarrollo de una inmunoreacción cuantificable no necesariamente significa que se consigue un estado de inmunidad protectora. A menudo es crítica la rama del sistema inmunitario que se activa, y por este motivo quienes crean la vacuna deben reconocer las diferencias importantes entre la activación de las ramas humoral y mediada por células. Un segundo factor es el desarrollo de memoria inmunitaria. Por ejemplo, una vacuna que induce una reacción primaria protectora puede no inducir la formación de células de memoria, lo que deja al hospedador desprotegido después de desaparecer la reacción primaria a la vacuna.

La función de las células de memoria en la inmunidad depende, en parte, del período de incubación del agente patógeno. En el caso del virus de la gripe, que tiene un período de incubación muy breve (uno o dos días), los síntomas de la enfermedad se encuentran en desarrollo en el momento en que se activan las células de memoria. La protección eficaz contra la gripe depende, por este motivo, de que se mantengan concentraciones elevadas de anticuerpo neutralizante por medio de inmunizaciones repetidas; quienes están en el más alto riesgo se inmunizan cada año. En el caso de los agentes patógenos que tienen un período de incubación más prolongado, no es necesario conservar al anticuerpo neutralizado perceptible en el momento de la infección. El virus de la poliomielitis, por ejemplo, requiere más de tres días para infectar el sistema nervioso central. El período de incubación concede tiempo a las células B de memoria para reaccionar y producir anticuerpo sérico en concentraciones elevadas. Por lo tanto, la vacuna de la polio se diseña para inducir altas concentraciones de memoria inmunitaria. Después de la inmunización con la vacuna Salk, las concentraciones séricas de anticuerpo alcanzan su máximo dentro de las dos primeras semanas, pero la reacción de memoria no deja de aumentar y llega a sus niveles máximos a los seis meses, con persistencia durante años (fig. 19-3). Si un individuo inmunizado se expone más tarde al virus de la poliomielitis, estas células de memoria reaccionan y se diferencian en células plasmáticas que producen grandes cantidades de anticuerpo sérico que defienden al individuo contra los efectos del virus.

En lo que resta de este capítulo se describen diversos criterios para el diseño de vacunas, empleadas en la actualidad o en fase de experimentación, y se revisa su capacidad de inducir inmunidad humoral y mediada por células y producir células de memoria.

Como se indica en el cuadro 19-4, las vacunas comunes que se usan en la actualidad constan de microorganismos vivos pero atenuados, células bacterianas o partículas víricas desactivadas (muertas), o fragmentos de proteína o carbohidrato (subunidades) del microorganismo blanco. Se encuentran en estudio cuidadoso varios tipos nuevos de posibles vacunas que presentan ventajas de protección, producción o embarque. En la lista se incluyen las características principales y algunas ventajas y desventajas de los distintos tipos de vacunas, con indicación del modo en que se usan actualmente o en que pueden aplicarse mejor a las enfermedades del ser humano.

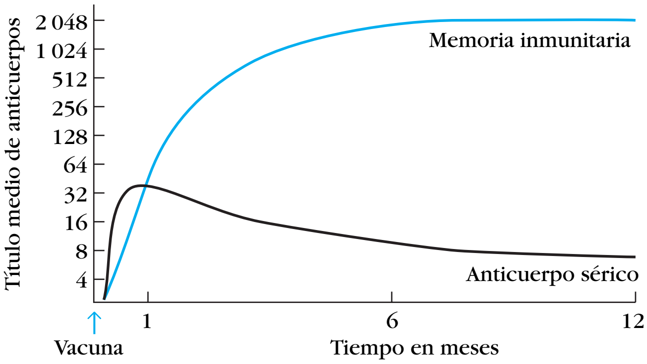


FIGURA 19-3 La inmunización con una sola dosis de vacuna Salk contra la poliomielitis induce un incremento rápido de las concentraciones séricas de anticuerpo, que llegan a su máximo en plazo de dos semanas y disminuyen después. La inducción de memoria inmunitaria sigue un curso más lento y alcanza los niveles máximos seis meses después de la vacuna. La persistencia de la reacción de memoria durante años después de la vacunación primaria es la causa de la inmunidad contra la poliomielitis. *[Con autorización de M. Zanetti et al., 1987,* Immunology Today ***8****:18.]*

Vacunas con microorganismos vivos atenuados

En algunos casos es posible atenuar los microorganismos de modo que pierdan su capacidad de causar afección considerable (patogenicidad), pero retengan su capacidad de reproducirse de manera transitoria dentro de un hospedador inoculado. Existen ejemplos de agentes naturalmente atenuados en virtud de su incapacidad de causar enfermedad en un hospedador dado, aunque son capaces de inmunizarlo. La primera vacuna usada por Jenner era de este tipo; la inoculación con el virus de la viruela bovina (vaccinia) en seres humanos confería inmunidad contra la viruela humana sin causar ésta. Muchas veces la atenuación se logra si se cultivan la bacteria o el virus patógenos durante períodos prolongados bajo condiciones anormales de cultivo. Este procedimiento selecciona cepas mutantes que están mejor dotadas para multiplicarse en estas condiciones anormales de cultivo y son, en consecuencia, menos capaces de reproducirse en el hospedador natural. Por ejemplo, se desarrolló una cepa atenuada de *Mycobacterium bovis* llamada **bacilo de Calmette-Guérin (BCG)** al cultivar este microorganismo en un medio que contenía concentraciones crecientes de bilis. Después de 13 años, esta cepa se había adaptado para proliferar en un medio con potentes concentraciones de bilis y se había atenuado lo suficiente para convertirse en un componente adecuado de la vacuna para la tuberculosis. Por razones relacionadas con su eficacia variable y las dificultades para el seguimiento, el BCG no se usa en Estados Unidos. La vacuna Sabin contra la poliomielitis y la vacuna contra

CUADRO 19-4 Clasificación de las vacunas comunes para uso en seres humanos

Tipo de vacuna	Enfermedades	Ventajas	Desventajas
Viva atenuada	Sarampión Paperas Poliomielitis (Sabin) Rotavirus Rubéola Tuberculosis Varicela Fiebre amarilla	Intensa inmunorreacción; a menudo inmunidad de por vida con pocas dosis	Requiere almacenamiento en refrigeración; podría mutar a una forma virulenta
Desactivada o muerta	Cólera Gripe Hepatitis A Peste Poliomielitis (Salk) Rabia	Estable; más segura que las vacunas vivas; no requiere almacenamiento en refrigeración	Inmunorreacción más débil que con vacunas vivas; suelen requerirse refuerzos
Toxoide	Difteria Tétanos	El sistema inmunitario queda cebado para reconocer toxinas bacterianas	
Subunidad (exotoxina desactivada)	Hepatitis B Tos ferina Neumonía estreptocócica	Antígenos específicos reducen la posibilidad de reacciones adversas	Difícil de producir
Conjugada	*Haemophilus influenzae* tipo B Neumonía estreptocócica	Ceba el sistema inmunitario del lactante para que reconozca determinadas bacterias	
DNA	En ensayos clínicos	Intensa inmunorreacción humoral y celular; manufactura relativamente económica	Aún no disponible
Vector recombinante	En ensayos clínicos	Imita la infección natural, de lo que resulta una intensa inmunorreacción	Aún no disponible

el sarampión consisten en cepas víricas atenuadas. El sustrato para elaborar la vacuna Sabin se atenuó al cultivarlo en células epiteliales renales de mono. La vacuna contra el sarampión contiene una cepa de virus de la rubéola que se cultivó en células de embrión de pato y más tarde en líneas celulares humanas.

Las vacunas atenuadas tienen ventajas y desventajas. Por su capacidad de multiplicarse de manera transitoria, los microorganismos de estas vacunas ofrecen exposición prolongada de los epítopos individuales de los microorganismos atenuados al sistema inmunitario, lo que tiene como consecuencia aumento de la inmunogenicidad y producción de células de memoria. Como consecuencia, estas vacunas suelen requerir sólo una inmunización, lo que ha eliminado la necesidad de refuerzos repetidos. Esta propiedad es una ventaja de primer orden en los países del tercer mundo, donde los estudios epidemiológicos han demostrado que una cantidad significativa de los individuos no vuelve para recibir cada refuerzo ulterior. La capacidad de los microorganismos de muchas vacunas atenuadas de multiplicarse dentro de las células hospedadoras hace a estas vacunas especialmente adecuadas para inducir una reacción mediada por células.

La vacuna Sabin contra la poliomielitis, constituida por tres cepas atenuadas del virus, se administra por vía oral a niños en un cubito de azúcar o un líquido azucarado. Los virus atenuados colonizan el intestino e inducen inmunidad protectora contra las tres cepas virulentas del virus de la poliomielitis. En el intestino, la vacuna Sabin induce la producción de IgA secretoria, que sirve como medio importante de defensa contra el virus de la poliomielitis adquirido de manera natural. Induce además la producción de las clases IgM e IgG de anticuerpos. A diferencia de la mayor parte de las otras vacunas atenuadas, que requieren una sola dosis inmunizante, la vacuna Sabin de la poliomielitis necesita refuerzos, ya que las tres cepas del virus atenuado contenidas en la vacuna interfieren en la multiplicación entre unas y otras en el intestino. Con la primera inmunización predomina el crecimiento de una cepa, con inducción de inmunidad contra ella. Con la segunda inmunización, la inmunidad generada por la inmunización previa limita el desarrollo de la primera cepa de la vacuna que predominó, lo que posibilita el predominio a su vez de una de las dos cepas restantes con generación de inmunidad contra ella. Por último, con la tercera inmunización, el individuo adquiere inmunidad contra las tres cepas.

Una desventaja importante de las vacunas atenuadas es la posibilidad de que los microorganismos retornen a su forma virulenta. La tasa de reversión de los virus de la vacuna Sabin contra la poliomielitis con producción de enfermedad paralítica ulterior se acerca a un caso por cada 2.4 millones de individuos vacunados. Esta reversión implica que unos cuantos sujetos inmuniza-

Casos de poliomielitis notificados

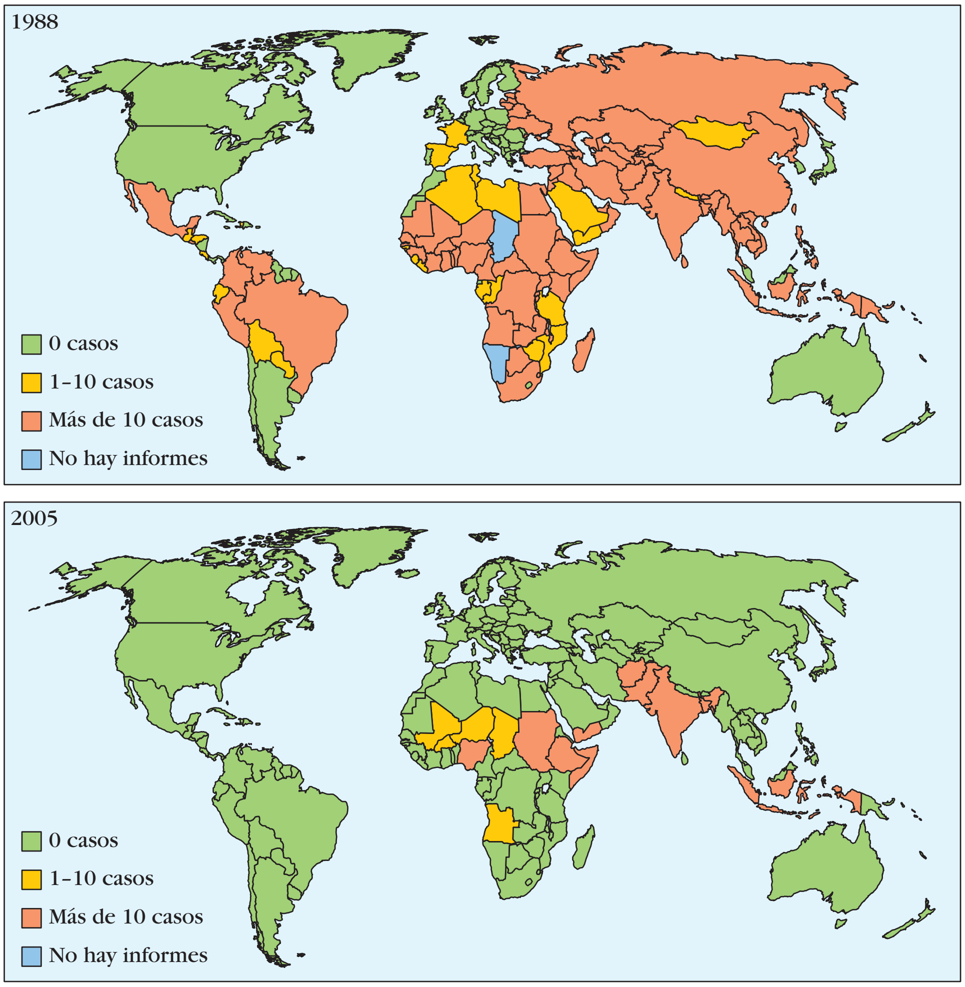


FIGURA 19-4 Progreso hacia la erradicación mundial de la poliomielitis. La comparación del número de infecciones de 1988 con el de 2005 pone de manifiesto un progreso considerable en casi todo el mundo, aunque algunas regiones de África y Asia han experimentado aumentos recientes. Algunos expertos se preguntan si el empleo de la vacuna oral de virus vivos atenuados de la poliomielitis producirá regresión a las formas patógenas a un ritmo suficientemente rápido para impedir la erradicación total de esta enfermedad invalidante que antes predominaba. *[Datos de la OMS.]*

dos liberan formas patógenas del virus que pueden encontrar su camino hacia el agua del abastecimiento municipal, sobre todo en regiones sin estándares rigurosos de saneamiento o donde deben reciclarse las aguas residuales. Esta posibilidad ha llevado al empleo exclusivo de la vacuna de virus de la poliomielitis desactivados en Estados Unidos (cuadro 19-3). La erradicación proyectada de la poliomielitis paralítica (fig. 19-4) es imposible en tanto se continúe el uso de la vacuna Sabin contra la poliomielitis en alguna parte del mundo. La vacuna Salk desactivada alternativa debe sustituirse conforme disminuye el número de casos, aunque se tienen problemas para proveer esta vacuna a los países en desarrollo. Por supuesto, la meta final de la erradicación es un mundo libre de poliomielitis en el que la vacuna no sea necesaria.

Las vacunas atenuadas pueden relacionarse también con complicaciones semejantes a las observadas durante la enfermedad natural. Un porcentaje pequeño de receptores de la vacuna del sarampión, por ejemplo, desarrolla encefalitis u otras complicaciones posvacunales. Sin embargo, como se muestra en el cuadro 19-5, el riesgo de complicaciones relacionadas con la vacuna es mucho más bajo que en la infección. En un estudio independiente se informó que se habían administrado 75 millones de dosis de vacuna del sarampión entre 1970 y 1993, con una incidencia de 48 casos de encefalopatía relacionados con ella. La incidencia baja de este efecto adverso en comparación con la tasa de encefalopatía relacionada con la infección se inclina en favor de la eficacia de la vacuna. Un argumento más convincente para la vacunación es la elevada tasa de defunciones que acompaña al sarampión incluso en los países desarrollados.

Las técnicas de ingeniería genética ofrecen una manera de atenuar el virus de manera irreversible al remover de manera selectiva de la vacuna genes que son necesarios para su virulencia o para la proliferación. Esto se ha efectuado con la vacuna del virus del herpes para cerdos, en la que se removió el gen de la timidincinasa. Como el virus requiere esta enzima para multiplicarse en ciertos tipos de células (p. ej., neuronas), la remoción del gen hizo al virus incapaz de producir la enfermedad.

En fecha reciente se creó una vacuna viva atenuada contra la gripe, y se autorizó su comercialización con el nombre FluMist.

CUADRO 19-5 Riesgo de complicaciones del sarampión natural en comparación con los riesgos conocidos de la vacunación con virus vivo atenuado en pacientes inmunosuficientes

Complicación	Riesgo después de la enfermedad natural*	Riesgo después de la vacunación†
Otitis media	7-9%	0
Neumonía	1-6%	0
Diarrea	66%	0
Encefalomielitis posinfecciosa	0.5-1 por 1 000	1 por 1 000 000
PESA	1 por 100 000	0
Trombocitopenia	__‡	1 por 30 000§
Muerte	0.1-1 por 1 000 (hasta 5-15% en los países en desarrollo)	0

*El riesgo después del sarampión natural se calcula en términos de episodios por número de casos.

†Los riesgos después de la vacunación se calculan en términos de episodios por número de dosis.

‡Aunque se ha notificado trombocitopenia después del sarampión, e incluso hemorragia, el riesgo no se ha cuantificado de la manera apropiada.

§Se ha informado este riesgo después de la vacunación con MMR y no puede atribuirse sólo al componente del sarampión.

MMR: sarampión, paperas y rubéola.

PESA: panencefalitis esclerosante subaguda.

El proceso de atenuación implicó el cultivo del virus a temperaturas menores que la normal, hasta que se obtuvo una cepa adaptada al frío. Esta cepa de virus de la gripe se desarrolla bien a temperaturas menores de 37°C pero es incapaz de proliferar a la temperatura del cuerpo humano, que es de 37°C. Este virus atenuado vivo se administra intranasalmente y causa una infección de las vías respiratorias superiores, suficiente para inducir una intensa inmunorreacción. El virus no puede propagarse más allá de las vías respiratorias superiores debido a su incapacidad de reproducirse a las temperaturas elevadas del interior del cuerpo, y por tanto su distribución es limitada. En virtud de su facilidad de administración y de que induce buena inmunidad de las mucosas, es probable que las vacunas antigripales adaptadas al frío y de uso nasal pronto dominen este campo.

Vacunas de microorganismos desactivados o muertos

Otro método común para crear vacunas es la desactivación del agente patógeno mediante calor o sustancias químicas, de tal modo que no sea capaz de multiplicarse en el hospedador. Es de importancia crítica conservar la estructura de los epítopos sobre los antígenos de superficie durante la desactivación. Por lo general, la desactivación por calor es insatisfactoria porque produce desnaturalización extensa de las proteínas; por este motivo es probable que se alteren de manera considerable los epítopos que dependen de los órdenes superiores de estructura proteínica. Ha tenido también buenos resultados la desactivación química con formaldehído o diversos agentes alquilantes. La vacuna Salk de la poliomielitis se elabora mediante desactivación del virus de la poliomielitis con formaldehído.

Las vacunas vivas atenuadas suelen requerir sólo una dosis para inducir inmunidad prolongada. Por otra parte, las vacunas de microorganismos muertos requieren a menudo refuerzos repetidos para conservar el estado de inmunidad del hospedador. Además, estas vacunas inducen una reacción de anticuerpo de predominio humoral; tienen menos eficacia que las de microorganismos atenuados para inducir inmunidad mediada por células y desencadenar una reacción secretoria de IgA.

Aunque contienen agentes patógenos muertos, las vacunas de microorganismos enteros desactivados representan aún ciertos riesgos. Una complicación grave con las primeras vacunas Salk surgió cuando el formaldehído no mató a todos los virus en dos lotes de vacunas, lo que produjo poliomielitis paralítica en un porcentaje elevado de los receptores. También existe riesgo en la manufactura de las vacunas desactivadas. Es necesario manipular grandes cantidades del agente infeccioso antes de su desactivación, y quienes se exponen al proceso están en riesgo de infectarse. Ha habido informes de infección de individuos que participan en la manufactura de la vacuna Salk.

En general, la seguridad de las vacunas desactivadas es mayor que la correspondiente a las vacunas vivas atenuadas, que retienen la capacidad de multiplicarse y tal vez revertir a una forma activa. Existen vacunas desactivadas de uso común contra enfermedades víricas y bacterianas. La vacuna contra la gripe clásica es de este tipo, al igual que las vacunas contra hepatitis A y cólera. Además de su relativa seguridad, otras ventajas de las vacunas desactivadas son estabilidad y facilidad de almacenamiento y transporte. El requisito de que la mayoría de las vacunas desactivadas se administre mediante inyección es una desventaja para su uso en campañas de vacunación masiva.

Vacunas subunitarias

Muchos de los riesgos que acompañan a las vacunas de microorganismos enteros atenuados o muertos pueden evitarse si se emplean vacunas constituidas por macromoléculas purificadas específicas que se derivan de agentes patógenos. Se utilizan en la actualidad tres formas generales de estas vacunas: exotoxinas o toxoides desactivados, polisacáridos capsulares y antígenos proteínicos recombinantes (cuadro 19-4).

Algunos toxoides se emplean como vacunas

Algunos patógenos bacterianos, incluidos los que causan difteria y tétanos, producen exotoxinas que explican muchos de los síntomas de su infección. Las vacunas para difteria y tétanos se producen purificando la exotoxina bacteriana y luego desactivándola con formaldehído para formar un **toxoide**. La vacunación con el toxoide induce anticuerpos antitoxina, que son capaces de fijarse a la toxina y neutralizar sus efectos. Las condiciones para la producción de vacunas a base de toxoide deben controlarse de manera estricta a fin de evitar la modificación excesiva de la estructura del epítopo al tiempo que se logra la destoxificación completa. Se obtienen cantidades suficientes de las toxinas purificadas para elaborar las vacunas clonando los genes que codifican la exotoxina y expresándolos en células hospedadoras fáciles de cultivar.

Es posible inducir inmunidad pasiva contra la toxina mediante la transferencia de suero que contiene anticuerpos antitoxoide. Como se expone en el capítulo 1, el tratamiento de la difteria antes de la disponibilidad de los antibióticos (o del desarrollo de una vacuna eficaz) implicaba la administración de antitoxina usualmente producida en caballos. De modo similar, es posible prevenir la enfermedad de quienes se exponen al tétanos tratándolos con antitoxina tetánica. Si un individuo que no se ha vacunado en fecha reciente contra el tétanos se expone a este agente, se le debe administrar la antitoxina. El botulismo se trata con antitoxina de caballo, pues hasta la fecha no se ha desarrollado en seres humanos una vacuna a base de toxoide contra el botulismo.

Se usan cápsulas bacterianas de polisacárido como vacunas

La virulencia de algunas bacterias patógenas depende sobre todo de las propiedades antifagocíticas de su cápsula de polisacárido hidrófila. Cubrir la cápsula con anticuerpos, complemento o ambas cosas incrementa en grado notable la capacidad de macrófagos y neutrófilos de fagocitar estos microorganismos patógenos. Estas observaciones han establecido las bases para la creación de vacunas constituidas por polisacáridos capsulares purificados.

La vacuna actual contra *Streptococcus pneumoniae*, agente productor de la neumonía neumocócica, está constituida por 23 polisacáridos capsulares diferentes desde el punto de vista antigénico. La vacuna induce formación de anticuerpos opsonizantes y se encuentra en la actualidad en la lista de vacunas recomendadas para todos los lactantes. La vacuna para combatir *Neisseria meningitidis*, causa frecuente de meningitis bacteriana, está constituida también por polisacáridos capsulares purificados.

Podrían elaborarse vacunas con glucoproteínas víricas

Aunque se han ensayado como vacunas determinadas glucoproteínas de subunidades víricas, por ejemplo una proteína de envoltura de VIH-1, y el éxito ha sido limitado, persiste la esperanza de que estas glucoproteínas puedan proteger contra algunas enfermedades. Un ensayo clínico reciente de glucoproteína D del virus del herpes simple tipo 2 previno el herpes genital en algunas personas que se sometieron a vacunación. La vacuna glucoproteínica se administró con un coadyuvante a voluntarios de ambos sexos que se habían sometido a detección de anticuerpos séricos contra HSV tipos 1 y 2. Los participantes seleccionados eran negativos para anticuerpos contra HSV-2 y tenían compañeros sexuales regulares con antecedente de herpes genital. La vacuna fue eficaz para prevenir el herpes genital en mujeres seronegativas para HSV tipos 1 y 2 al inicio del estudio, pero confirió escasa protección a las positivas para HSV tipo 1 (que causa lesiones bucales pero no genitales). Los sujetos del sexo masculino no recibieron protección, independientemente de la presencia o ausencia de anticuerpos contra HSV.

Por medio de técnicas recombinantes se obtienen proteínas de agentes patógenos

En teoría, el gen que codifica cualquier proteína inmunógena se puede clonar y expresar en células bacterianas, de levaduras o mamífero mediante tecnología de DNA recombinante. Se han clonado con buenos resultados diversos genes que codifican antígenos de superficie de agentes patógenos víricos, bacterianos y protozoarios en sistemas de expresión de bacterias, levaduras, insectos o mamífero, y se han empleado los antígenos expresados para el desarrollo de vacunas. La primera de estas vacunas de antígeno recombinante aprobada para su uso en seres humanos fue la vacuna de la hepatitis B, que se desarrolló mediante clonación del gen para el antígeno mayor de superficie del virus de la hepatitis B (HBsAg) y su expresión en levaduras. Las células de levaduras recombinantes se cultivan en grandes sistemas fermentadores y se acumula HBsAg en ellas. A continuación estas células se cosechan y desintegran mediante gran presión, para que liberen el HBsAg recombinante, que luego se purifica por las técnicas bioquímicas ordinarias. Se ha demostrado que esta vacuna recombinante de la hepatitis B induce la producción de anticuerpos protectores, y es muy promisoria para los 250 millones de portadores de la hepatitis B crónica que hay en el mundo.

Muchas de las vacunas propuestas para enfermedades importantes como el paludismo constan de una o más proteínas del patógeno. Estas proteínas se biosintetizan en grandes cantidades usando líneas celulares apropiadas y luego se purifican mediante procedimientos que no introducen contaminantes en el producto. Un problema universal tiene que ver con el desarrollo de inmunoreacciones contra estas proteínas. Determinados coadyuvantes, como el alumbre, están aprobados para su uso en seres humanos, pero los más eficaces, como los coadyuvantes completo e incompleto de Freund, generan efectos secundarios inaceptables. Un campo de indagación reciente es la búsqueda de compuestos con un intenso efecto coadyuvante que no representen peligro para quienes recibirán la vacuna. Entre los compuestos candidatos se encuentran los que activan células dendríticas y macrófagos vía receptores tipo Toll (cap. 3). Esta activación de células del sistema inmunitario innato movilizarían una respuesta de componentes del sistema inmunitario adaptativo. Entre las sustancias que se investigan por sus efectos coadyuvantes están oligonucleótidos con la secuencia $[\text{CpG}]_n$ (un motivo común en bacterias) y componentes de la pared celular de las bacterias gramnegativas, como LPS.

El empleo de péptidos sintéticos como vacunas ha progresado con lentitud

Si las proteínas subunitarias pueden constituir vacunas útiles, se sigue que debemos ser capaces de identificar sus epítopos más activos, crear péptidos sintéticos que imiten esos epítopos, y usarlos como vacunas. Entre las ventajas se incluirían facilidad de síntesis en condiciones altamente controladas y seguridad virtualmente total. A pesar de estas características muy promisorias, el empleo de péptidos sintéticos como vacunas no ha progresado como se proyectó en un principio. Los péptidos no son tan inmunógenos como las proteínas, y es difícil conferir inmunidad humoral o mediada por células contra ellos. El empleo de conjugados y coadyuvantes puede contribuir a la inducción de inmunidad contra los péptidos, pero aún hay barreras para el empleo generalizado de vacunas peptídicas. En compensación por el desencanto con estas vacunas, ha habido un continuo avance en las técnicas para producir proteínas recombinantes en cultivo celular transfectado. En todo caso, persiste considerable interés teórico en todos los aspectos de la inmunidad a péptidos, que aún puede generar conocimientos que lleven a la creación de nuevas vacunas.

Vacunas conjugadas

Una limitación de las vacunas de polisacárido es su incapacidad de activar las células T_H. Activan las células B del tipo 2 (TI-2) de una forma independiente del timo, lo que tiene como consecuencia producción de IgM pero poco cambio de clase, maduración nula de la afinidad y poco desarrollo, en el mejor de los casos, de células de memoria. Diversos investigadores han informado la inducción de células plasmáticas secretoras de IgA que reciben inmunización subcutánea con la vacuna de polisacáridos neumocócicos. En este caso, como las células T_H no participan en la reacción, la vacuna puede activar células B de memoria específicas de IgA que se generaron con anterioridad con la exposición natural de las superficies mucosas a los antígenos bacterianos. Como estas bacterias tienen epítopos polisacáridos y proteínicos, activarían las células T_H, las que a su vez podrían mediar el cambio de clase y la formación de células de memoria.

Una manera de hacer participar a las células T_H en la reacción a un antígeno polisacárido consiste en conjugarlo con alguna clase de proteína portadora. Por ejemplo, la vacuna para combatir *Haemophilus influenzae* del tipo b (Hib), causa principal de la meningitis bacteriana en niños menores de cinco años, está constituida por polisacárido capsular del tipo b enlazado de manera covalente con una proteína portadora, el toxoide tetánico (fig. 19-5a). El conjugado de polisacárido y proteína es mucho más inmunógeno que el polisacárido por sí solo y, puesto que activa las células T_H, permite el cambio de clase desde la IgM hacia la IgA. Aunque este tipo de vacuna puede inducir células B de memoria, no lo puede hacer con células T de memoria específicas para el agente patógeno. En el caso de la vacuna Hib, parece que las células B de memoria se pueden activar en cierto grado en ausencia de una población de células T_H de memoria, lo que explica la eficacia de esta vacuna. Las infecciones por Hib pueden causar sordera y defectos neurológicos; la utilidad de esta vacuna se aprecia en países con amplia cobertura de la vacuna conjugada. En la figura 19-5b se observa la rápida declinación de los casos de Hib en Estados Unidos.

Un polisacárido confiere protección contra varios hongos

Un estudio reciente sobre un polisacárido micótico usado como vacuna conjugada en animales arrojó resultados promisorios. La inmunización con glucano β aislado de algas pardas y conjugado con toxoide diftérico produjo anticuerpos que protegieron a ratones y ratas contra inóculos tanto de *Aspergillus fumigatus* como de *Candida albicans*. La protección se transfirió en el suero o el líquido vaginal de los animales inmunizados, lo cual indica que la inmunidad es basada en anticuerpo. Este descubrimiento fue corroborado cuando un anticuerpo monoclonal contra el glucano β también confirió protección. Las infecciones por hongos patógenos son un problema grave en individuos inmunodeficientes, y la disponibilidad de inmunización o tratamiento con anticuerpos podría evitar problemas de toxicidad de antimicóticos y al mismo tiempo contrarrestar el problema de aparición de cepas resistentes, un tema de especial importancia en ambientes hospitalarios.

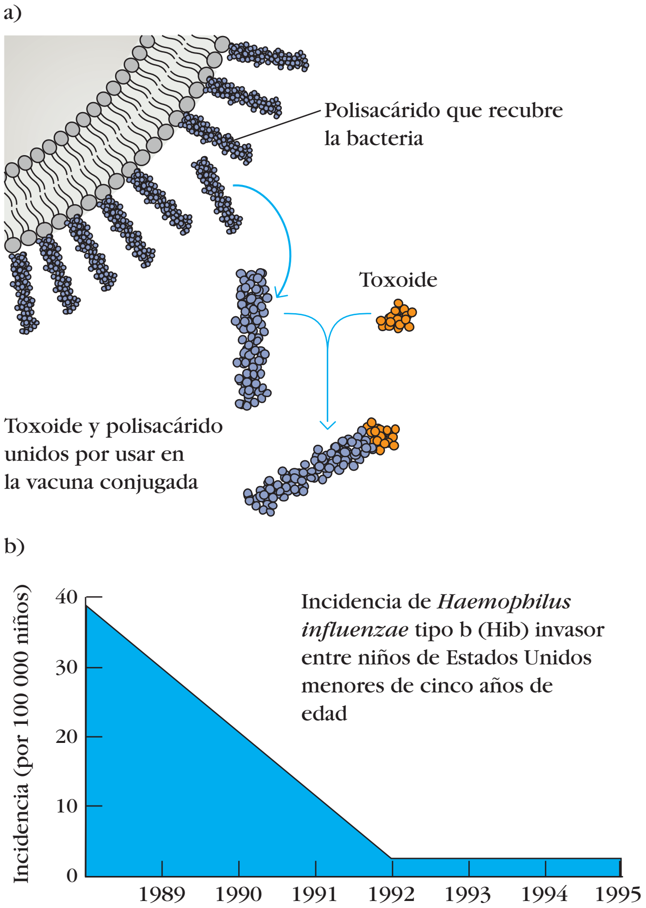
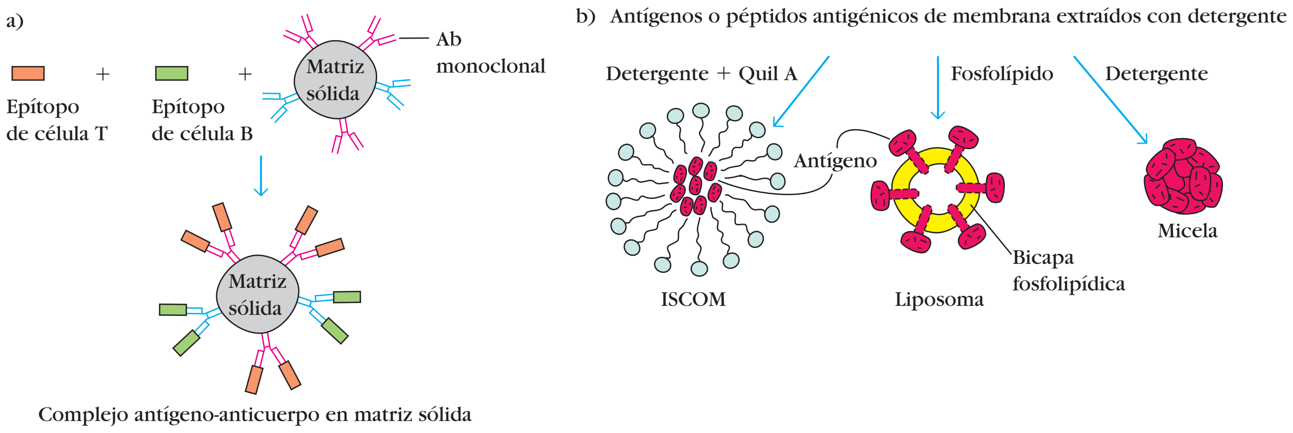

a)
Polisacárido que recubre la bacteria
Toxoide
Toxoide y polisacárido unidos por usar en la vacuna conjugada
b)
Incidencia (por 100 000 niños)
40
30
20
10
0
1989
1990
1991
1992
1993
1994
1995
Incidencia de *Haemophilus influenzae* tipo b (Hib) invasor entre niños de Estados Unidos menores de cinco años de edad

FIGURA 19-5 Una vacuna conjugada protege contra *Haemophilus influenzae* tipo b (Hib). a) La vacuna se produce conjugando el polisacárido de superficie de Hib con una molécula de proteína. b) Desde la introducción de esta vacuna en Estados Unidos, la incidencia de enfermedad por Hib ha disminuido de manera impresionante. *[Parte b, Summary of notifiable diseases, 1995,* CDC Morbidity and Mortality Weekly Report.*]*

Las vacunas subunitarias multivalentes confieren inmunidad celular y humoral

Una de las limitaciones de las vacunas de péptidos sintéticos y de las de proteínas recombinantes es que tienden a ser deficientes desde el punto de vista inmunógeno. También tienden a inducir una



c) Descarga desde ISCOM de antígeno en la célula

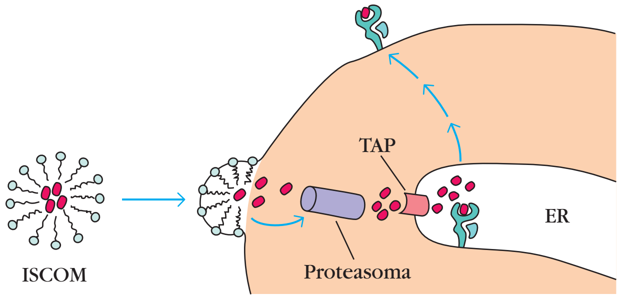


FIGURA 19-6 Vacunas subunitarias multivalentes. a) Es posible diseñar complejos de matriz sólida, anticuerpo y antígeno para que contengan péptidos sintéticos que representen epítopos de células T y B. b) Pueden elaborarse micelas proteínicas, liposomas y complejos inmunoestimulantes (ISCOM) con antígenos extraídos o péptidos antigénicos. En micelas y liposomas los residuos hidrófilos de las moléculas de antígeno están orientados hacia el exterior. En los ISCOM las colas largas de ácidos grasos de la capa detergente externa se encuentran junto a los residuos hidrófobos de las moléculas de antígeno localizadas a nivel central. c) ISCOM y liposomas pueden descargar antígenos dentro de las células, de modo que imiten a los antígenos endógenos. El procesamiento ulterior por la vía citosólica y la presentación con moléculas MHC clase I inducen una inmunorreacción mediada por células.

reacción de anticuerpo humoral, pero es menos probable que induzcan una mediada por células. Lo que se necesita es un método para elaborar vacunas de péptidos sintéticos que contengan epítopos inmunodominantes de células B y T. Más aún, si se desea una reacción de CTL, la vacuna debe descargarse por vía intracelular de modo que los péptidos se puedan procesar y presentar en conjunto con moléculas MHC clase I. En la actualidad se aplican diversas técnicas innovadoras para desarrollar vacunas multivalentes que puedan presentar copias múltiples de un péptido determinado o una mezcla de péptidos al sistema inmunitario (fig. 19-6).

Un método consiste en producir complejos antígeno-anticuerpo en matriz sólida (SMAA, del inglés *solid matrix-antibody-antigen*), para lo cual se fijan anticuerpos monoclonales a matrices sólidas particuladas y luego se satura el anticuerpo con el antígeno deseado. Después se emplean los complejos resultantes como vacunas. Al adherir múltiples anticuerpos monoclonales a la matriz sólida es posible fijar una mezcla de péptidos o proteínas, que incluyen los epítopos inmunodominantes para las células T y B (fig. 19-6a). Se ha demostrado que estos complejos multivalentes provocan reacciones humorales y celulares intensas. Su naturaleza particulada contribuye a su alta inmunogenicidad al facilitar la fagocitosis por las células del hospedador.

Otro medio para producir una vacuna multivalente consiste en emplear detergente para incorporar los antígenos proteínicos en micelas de proteínas, vesículas lipídicas (llamadas liposomas) o complejos inmunoestimulantes (fig. 19-6b). Se forman micelas al mezclar las proteínas con el detergente y luego retirar éste. Las proteínas individuales se orientan con sus residuos hidrófilos hacia el ambiente acuoso y los hidrófobos en el centro, de modo que se excluye su interacción con el ambiente acuoso. Los liposomas que contienen antígenos proteínicos se elaboran mezclando las proteínas con una suspensión de fosfolípidos bajo condiciones que crean vesículas con bicapa lipídica. Las proteínas se incorporan en la bicapa con los residuos hidrófilos expuestos. Los complejos inmunoestimulantes (ISCOM) son portadores lipídicos que se forman al mezclar una proteína con detergente y un glucósido denominado Quil A.

Se han incorporado en micelas, liposomas y ISCOM proteínas de membrana de diversos agentes patógenos, como virus de la gripe, virus del sarampión, virus de la hepatitis B y VIH, y se han valorado como vacunas potenciales. Además de su mayor inmunogenicidad, los liposomas y ISCOM parecen fusionarse con la membrana plasmática para descargar el antígeno dentro de la célula, donde puede ser procesado por la vía citosólica e inducir así una reacción mediada por células (fig. 19-6c).

Vacunas de DNA

En una estrategia de vacunación que se investiga actualmente para varias enfermedades se utiliza DNA de plásmido que codifica proteínas antigénicas, el cual se inyecta directamente en el músculo del receptor. Las células musculares captan el DNA y expresan el antígeno proteínico codificado, lo que precipita una reacción de inmunidad humoral y otra mediada por células. Lo que es más sorprendente de esta observación es que las células musculares captan y expresan el DNA inyectado con eficiencia mucho mayor que la observada en células de cultivo tisular. El DNA parece integrarse en el DNA cromosómico o conservarse durante períodos prolongados en forma de episoma. El antígeno vírico es expresado no sólo por las células musculares, sino también por las células dendríticas en la zona de la inyección. Las células musculares expresan concentraciones bajas de moléculas MHC clase I y no moléculas coestimuladoras, lo cual sugiere que las células dendríticas locales podrían ser cruciales para el desarrollo de reacciones antigénicas a las vacunas de DNA (fig. 19-7).

Las vacunas de DNA ofrecen ventajas sobre muchas de las existentes. Por ejemplo, la proteína codificada se expresa en el hospedador en su forma natural, sin desnaturalización ni modificación. Por lo tanto, la reacción inmunitaria se dirige contra el antígeno tal y como lo expresa el agente patógeno. Las vacunas de DNA inducen además inmunidad humoral y mediada por células; la estimulación de ambas ramas de la inmunidad mediante vacunas que no son de DNA requiere, en condiciones normales, inmunización con un preparado de microorganismos vivos atenuados, que introducen elementos de riesgo adicionales. Por último, las vacunas de DNA producen expresión prolongada del antígeno, lo que crea memoria inmunitaria considerable.

Los aspectos prácticos de las vacunas de DNA son también muy promisorios (cuadro 19-4). No se requiere refrigeración para la manipulación y el almacenamiento del DNA de plásmido, lo que reduce de manera significativa el costo y la complejidad de su envío. El mismo vector plásmido puede diseñarse de manera individualizada para que produzca diversas proteínas, de tal modo que puedan emplearse las mismas técnicas para la fabricación de las diversas vacunas de DNA, cada una codificadora de un antígeno proveniente de un patógeno distinto. Un método mejorado para la administración de estas vacunas consiste en cubrir partículas microscópicas de oro con el DNA del plásmido y, a continuación, introducirlas a través de la piel hasta el músculo subyacente con una pistola de aire (llamada *pistola génica*). Esto hace posible la administración rápida de una vacuna a grandes poblaciones sin necesidad de reservas gigantescas de agujas y jeringas.

Las pruebas efectuadas con vacunas de DNA en modelos animales han demostrado que son capaces de conferir inmunidad protectora contra diversos agentes patógenos, entre ellos el virus de la gripe. Se ha corroborado asimismo que la inclusión de ciertas secuencias de DNA en el vector desencadena una reacción inmunitaria intensificada. Una de tales secuencias es la CpG observada en patógenos; recuérdese que esta secuencia es el ligando para TLR9. En la actualidad se realizan ensayos en seres humanos con diferentes vacunas de DNA, entre ellas las de paludismo, SIDA, gripe, fiebre de Ébola y herpes. En un éxito experimental reciente con vacunas de DNA se confirió protección a ratones contra inóculos de coronavirus del SARS mediante un vector de DNA que codificaba la proteína de las espículas de este virus. (En el cap. 18 se expone el surgimiento del SARS.) El suero de los receptores de la vacuna transfirió inmunidad, lo cual demuestra que los antígenos neutralizantes se formaron a raíz de la vacunación y fueron protectores en el modelo murino de infección por SARS.

En los estudios experimentales futuros de vacunas con DNA se mezclarán genes de proteínas antigénicas con los de citocinas o quimiocinas que dirigen la reacción inmunitaria hacia la vía óptima. Por ejemplo, puede incluirse el gen de la IL-12 en una vacuna de DNA; la expresión de esta interleucina en el sitio de inmunización estimulará la inmunidad del tipo T_H1 inducida por la vacuna.

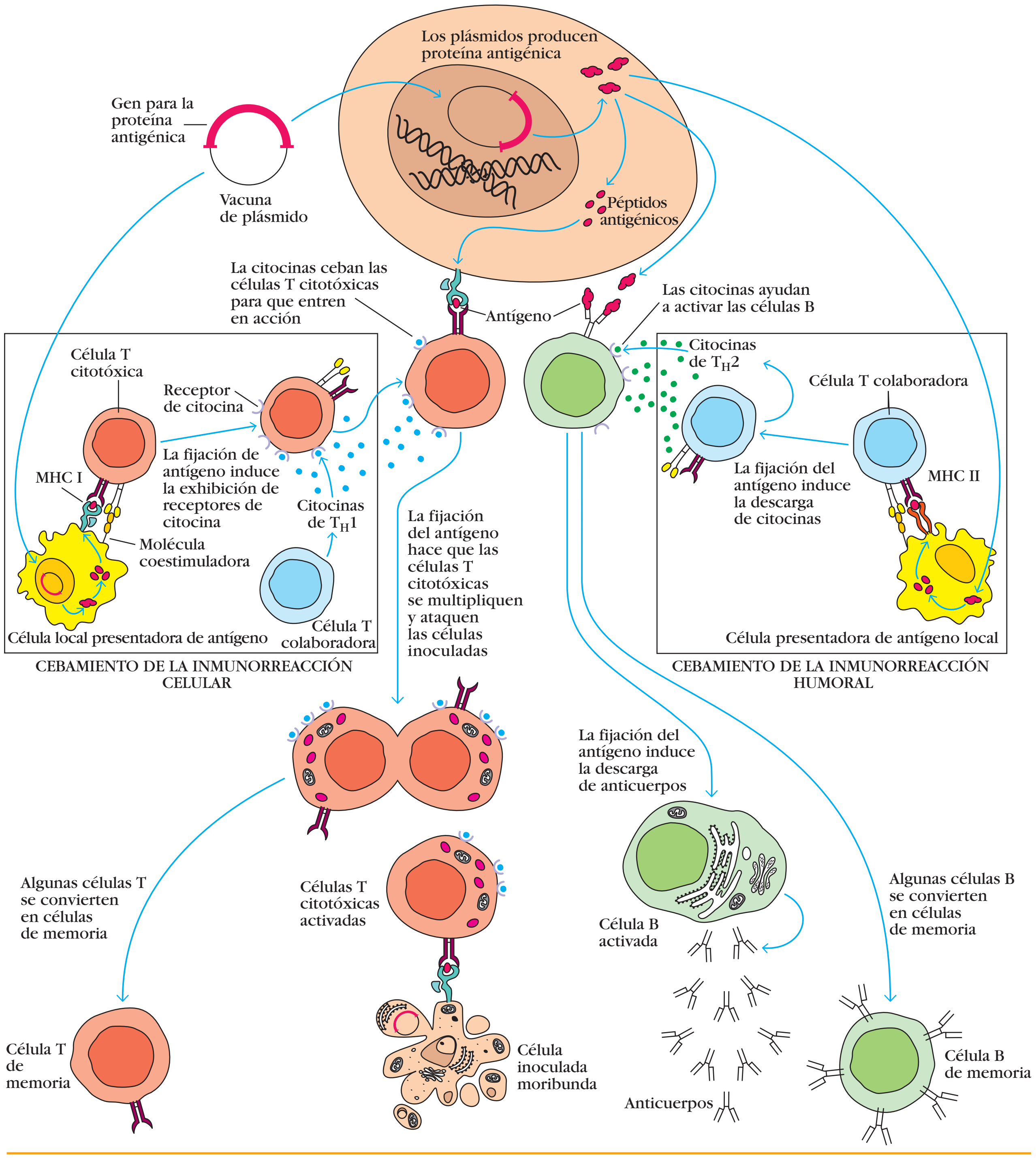
Las vacunas de DNA se encuentran en la fase de ensayos clínicos, y es probable que se usen en la inmunización de personas en los próximos años. Sin embargo, no constituyen una solución universal a los problemas de la vacunación; por ejemplo, sólo pueden codificarse antígenos proteínicos; además, ciertas vacunas, como las usadas contra infecciones neumocócicas y meningocócicas, se basan en antígenos polisacáridos y no son candidatas para el suministro vía DNA.

Vacunas con vectores recombinantes

Es posible introducir en virus o bacterias atenuados genes que codifican antígenos mayores de agentes patógenos especialmente virulentos. El microorganismo atenuado funciona como vector, se multiplica en el hospedador y expresa el producto génico del agente patógeno. Se han elaborado vacunas con virus atenuados vivos a partir de vacunas ya autorizadas a las que se agregan genes que codifican antígenos presentes en patógenos de reciente aparición. Es posible que tales vacunas de virus quiméricos sean probadas y autorizadas más rápido que un producto totalmente nuevo, con lo que se ahorraría tiempo valioso. Un ejemplo muy reciente de este tipo de quimera es la vacuna de la fiebre amarilla, que se sometió a ingeniería genética para que expresara antígenos del virus nilooccidental. Se han utilizado diversos microorganismos como vectores para vacunas, por ejemplo virus de la viruela bovina, virus de la viruela de los canarios, virus de la polio atenuados, adenovirus, cepas atenuadas de *Salmonella*, cepa BCG de *Mycobacterium bovis* y ciertas cepas de estreptococos que existen habitualmente en la cavidad bucal.

El virus de la viruela bovina, una forma atenuada que se utiliza para erradicar la viruela, se ha usado ampliamente como vector. Este virus complejo de gran tamaño, cuyo genoma consta de unos 200 genes, puede someterse a ingeniería genética para que porte varias docenas de genes extraños sin trastornar su capacidad de infectar células del hospedador y multiplicarse en ellas. En la figura 19-8 se ilustra el procedimiento para producir un vector de viruela bovina que lleva un gen extraño obtenido de un agente patógeno. El virus de la viruela bovina sometido a ingeniería genética expresa concentraciones elevadas del producto génico insertado, que luego puede servir como inmunógeno potente en el hospedador inoculado. Al igual que la vacuna ordinaria contra la viruela, las vacunas que tienen como vector virus de la viruela bovina sometidos a ingeniería genética pueden administrarse simplemente rasguñando la piel, lo que produce infección localizada en las células del hospedador. Si el producto génico extraño expresado por el virus de la viruela bovina es una proteína de la cubierta vírica, se inserta en la membrana de la

FIGURA 19-7 PARA VISUALIZACIÓN DE CONCEPTOS: El empleo de vacunas de DNA induce inmunidad humoral y celular


Los plásmidos producen proteína antigénica
Gen para la proteína antigénica
Vacuna de plásmido
Péptidos antigénicos
La citocinas ceban las células T citotóxicas para que entren en acción
Antígeno
Las citocinas ayudan a activar las células B
Célula T citotóxica
Receptor de citocina
La fijación de antígeno induce la exhibición de receptores de citocina
MHC I
Molécula coestimuladora
Citocinas de T_H1
Célula T colaboradora
Célula local presentadora de antígeno
CEBAMIENTO DE LA INMUNORREACCIÓN CELULAR
Citocinas de T_H2
Célula T colaboradora
La fijación del antígeno induce la descarga de citocinas
MHC II
Célula presentadora de antígeno local
CEBAMIENTO DE LA INMUNORREACCIÓN HUMORAL
La fijación del antígeno hace que las células T citotóxicas se multipliquen y ataquen las células inoculadas
La fijación del antígeno induce la descarga de anticuerpos
Algunas células T se convierten en células de memoria
Células T citotóxicas activadas
Célula B activada
Algunas células B se convierten en células de memoria
Célula T de memoria
Célula inoculada moribunda
Anticuerpos
Célula B de memoria

El gen inyectado se expresa en la célula muscular que lo ha recibido y en las células presentadoras de antígeno (APC) cercanas. Los péptidos de la proteína codificada por el DNA se expresan en la superficie de ambos tipos de células después del procesamiento como antígeno endógeno por la vía de MHC clase I. Las células presentadoras de antígeno en el contexto de las moléculas MHC clase I estimulan el desarrollo de células T citotóxicas. La proteína codificada por el DNA inyectado se expresa también como proteína secretada soluble, que se capta, procesa y presenta en el contexto de moléculas MHC clase II. Esta vía estimula la inmunidad mediada por células B y genera anticuerpos y células B de memoria contra la proteína. *[Adaptada de D. B. Weiner y R. C. Kennedy, 1999,* Scientific American ***281****:50.]*

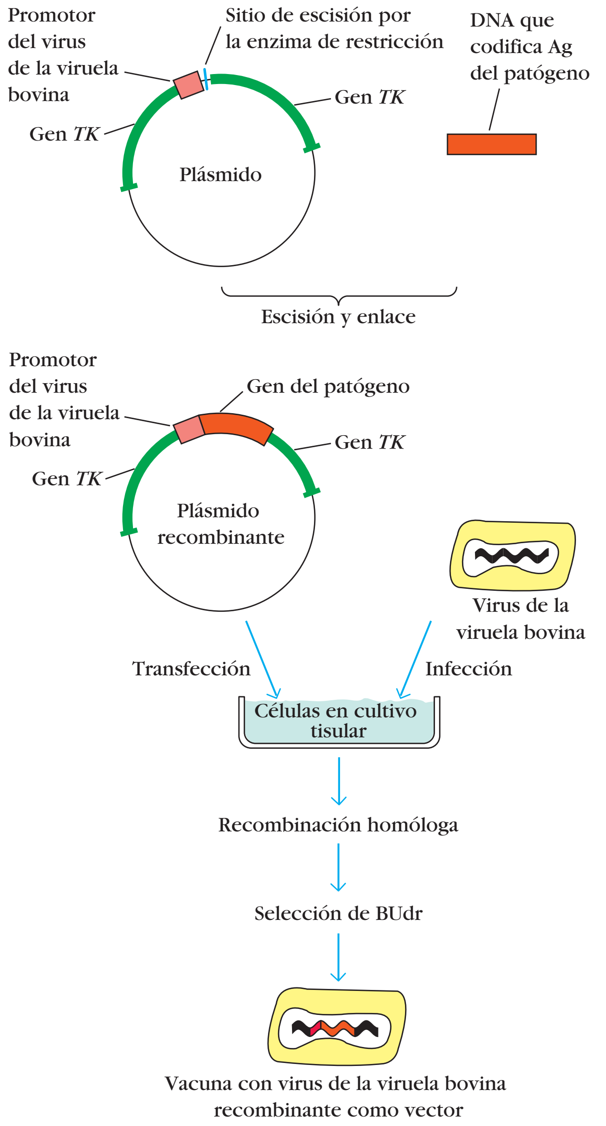

Promotor del virus de la viruela bovina
Sitio de escisión por la enzima de restricción
DNA que codifica Ag del patógeno
Gen *TK*
Gen *TK*
Plásmido
Escisión y enlace
Promotor del virus de la viruela bovina
Gen del patógeno
Gen *TK*
Gen *TK*
Plásmido recombinante
Virus de la viruela bovina
Transfección
Infección
Células en cultivo tisular
Recombinación homóloga
Selección de BUdr
Vacuna con virus de la viruela bovina recombinante como vector

FIGURA 19-8 Producción de la vacuna vectorial para la viruela. El gen que codifica el antígeno deseado (anaranjado) se inserta en un vector plásmido adyacente al promotor de la viruela bovina (rosado) y flanqueado a cada lado por el gen de la timidincinasa (TK) de este virus (verde). Cuando se incuban células en cultivo tisular de manera simultánea con virus de la viruela bovina y el plásmido recombinante, se insertan el gen del antígeno y el promotor en el genoma del virus por recombinación homóloga en el sitio del gen TK no esencial, lo que tiene como consecuencia un virus recombinante TK^-. Las células que contienen el virus de la viruela bovina recombinante se seleccionan mediante adición de bromodesoxiuridina (BUdr), que destruye los individuos TK^+. *[Adaptado de B. Moss, 1985,* Immunology Today *6:243.]*

célula hospedadora infectada e induce inmunidad mediada por células así como inmunidad mediada por anticuerpo.

Otras vacunas con vectores atenuados podrían ser más seguras que la de virus de la viruela bovina. En fecha reciente se han realizado pruebas de esta clase con el virus de la viruela de los canarios. Como su pariente, el virus de los bovinos, el de los canarios es de gran tamaño y se somete con facilidad a ingeniería genética para que lleve múltiples genes. A diferencia de aquél, éste no parece ser virulento incluso en individuos que padecen supresión grave de la inmunidad. Otro posible vector es una cepa atenuada de *Salmonella typhimurium*, en la que se han insertado mediante ingeniería genes de la bacteria causante del cólera. La ventaja de este vector vacunal consiste en que *Salmonella* infecta células de la túnica mucosa del intestino y por tanto induce la producción de IgA secretoria. La inmunidad eficaz contra diversas enfermedades, entre ellas el cólera y la gonorrea, depende del aumento de la producción de IgA secretoria en las superficies de las mucosas. Se encuentran en desarrollo medidas similares en las que se emplean bacterias que son habitantes normales de la flora de la cavidad bucal. La estrategia consistiría en introducir genes que codifican antígenos de microorganismos patógenos en cepas bacterianas que habitan en la boca o las vías respiratorias. La inducción de inmunidad en la superficie de la mucosa podría ofrecer excelente protección en la puerta de entrada que usa el patógeno.

RESUMEN

- Es posible inducir un estado de inmunidad mediante inmunización pasiva o activa. La forma pasiva a corto plazo se confiere por transferencia de anticuerpos preformados. La infección y la vacunación logran la inmunización activa a largo plazo.
- En la actualidad se emplean tres tipos de vacunas en el ser humano: con microorganismos vivos atenuados (avirulentos), microorganismos desactivados (muertos) y macromoléculas purificadas.
- Los componentes proteínicos de los patógenos que se expresan en cultivo celular pueden ser vacunas eficaces. Las vacunas de polisacárido pueden conjugarse con proteínas para maximizar la inmunogenicidad.
- Los vectores recombinantes víricos o bacterianos, sometidos a ingeniería genética para que se conviertan en portadores de genes de microorganismos infecciosos, maximizan la inmunidad mediada por células a los antígenos codificados.
- El DNA de plásmido que codifica antígenos proteínicos de un patógeno induce tanto inmunidad humoral como mediada por células; actualmente se encuentran en ensayos clínicos vacunas de DNA para varias enfermedades.
- Lograr los beneficios óptimos de las vacunas exigirá disminuir los costos de fabricación y mejorar los métodos de envío de las vacunas existentes.

Bibliografía

Afzal. M. F., et al. 2000. Clinical safety issues of measles, mumps, and rubella vaccines. *Bulletin of the World Health Organization* **78**:199.

Dittmann, S., 2000. Successful control of epidemic diphteria in the states of the former Union of Soviet Socialist Republics: lessons learned. *Journal of Infectious Disease* **181** (suppl. 1):S10.

Grandi, G. 2001. Antibacterial design using genomics and proteomics. *Trends in Biotechnology* **19**:181.

Henderson, D. A. 1976. The eradication of smallpox. *Scientific American* **235**:25.

Jilek, S., et al. 2005. DNA-loaded biodegradable microparticles as vaccine delivery systems and their interaction with dendritic cells. *Advanced Drug Delivery Reviews* **57**:377.

Kew, O. M., et al. 2004. Circulating vaccine-derived polioviruses: current state of knowledge. *Bulletin of the World Health Organization* **82**:16.

Shann. F., and M. C. Steinhoff. 1999. Vaccines for children in rich and poor countries. *Lancet* **354**(suppl. II):7.

Smeeth, L., et al. 2004. MMR vaccination and pervasive developmental disorders: a case-control study. *Lancet* **364**:963.

Stanberry, L. R., et al. 2002. Glycoprotein-D-adjuvant vaccine to prevent genital herpes. *New England Journal of Medicine* **347**:1652.

Torosantucci, A., et al. 2005. A novel glyco-conjugated vaccine against fungal pathogens. *Journal of Experimental Medicine* **202**:597.

Wroe, A. L., et al. 2005. Feeling bad about immunizing our children. *Vaccine* **23**:1428.

Yang, Y-Z, et al. 2004. A DNA vaccine induces SARS coronavirus neutralization and protective immunity in mice. *Nature* **248**:561.

Zinkernagel, R. M. 2003. On natural and artificial vaccinations. *Annual Review of Immunology* **21**:515.

Sitios útiles de la red

http://www.VaccineAlliance.org/

Página de la Alianza Global para las Vacunas y la Inmunización (GAVI), fuente de información sobre las vacunas en los países en desarrollo y sobre los esfuerzos mundiales para la erradicación de las enfermedades. Contiene vínculos con importantes sitios internacionales que proporcionan información sobre vacunas.

http://www.ecbt.org/

Every Child by Two ofrece información sobre las vacunaciones de la infancia, incluidos programas de inmunización recomendados.

Preguntas de estudio

PREGUNTA DE ENFOQUE CLÍNICO Se ha informado una relación entre la vacuna neumocócica y una forma relativamente rara de artritis. ¿Qué datos son necesarios para validar este informe? ¿Cómo podría proceder para evaluar esta posible conexión?

1. Indique si cada una de las siguientes afirmaciones es verdadera o falsa. Si cree que es falsa, explique las razones.
   a. La transferencia transplacentaria de anticuerpos IgG maternos contra el sarampión confiere al feto inmunidad a corto plazo.
   b. Las vacunas de microorganismos atenuados tienen más probabilidad de inducir inmunidad mediada por células que las elaboradas con microorganismos muertos.
   c. Por lo general, las vacunas subunitarias multivalentes precipitan una reacción más intensa que las vacunas de péptidos sintéticos.
   d. Una desventaja de las vacunas de DNA consiste en que no generan memoria inmunitaria de importancia.
   e. Las macromoléculas contienen en general gran número de epítopos potenciales.
   f. Una vacuna de DNA induce sólo reacción a un epítopo único.

2. ¿Cuáles son las ventajas y desventajas de utilizar microorganismos atenuados como vacunas?

3. Una niña pequeña nunca antes inmunizada contra el tétanos pisó un clavo oxidado que le provocó una herida punzante profunda. El médico limpió la herida y administró una inyección de antitoxina tetánica.
   a. ¿Por qué se prescribió antitoxina en vez de una dosis de refuerzo?
   b. Si la niña no recibe tratamiento ulterior y vuelve a lesionarse con un clavo oxidado tres años más tarde, ¿es inmune contra el tétanos?

4. ¿Cuáles son las ventajas de la vacuna Sabin contra la poliomielitis en comparación con la vacuna Salk? ¿Por qué no se recomienda más la vacuna Sabin en Estados Unidos?

5. ¿Por qué la vacuna contra la gripe a base de virus vivos atenuados no causa infección respiratoria?

6. En un intento por desarrollar una vacuna de péptido sintético se analizó una secuencia de aminoácidos de un antígeno proteínico para identificar a) los péptidos hidrófobos y b) los péptidos muy hidrófilos. ¿De qué manera los péptidos de cada tipo podrían emplearse como vacunas para inducir reacciones inmunitarias diferentes?

7. Explique el fenómeno de la inmunidad colectiva. ¿De qué manera se relaciona este proceso con la aparición de ciertas epidemias?

8. Se identifica un antígeno proteínico bacteriano que confiere inmunidad protectora contra una bacteria patógena y se clona el gen que lo codifica. Las opciones son expresar la proteína en levadura y emplear esta proteína recombinante como vacuna, o usar al gen que codifica la proteína para elaborar una vacuna de DNA. ¿Cuál es la opción que elegiría y por qué?

9. Explique las relaciones entre el período de incubación de un patógeno y el criterio necesario para lograr la inmunización activa eficaz.

10. Señale los tres tipos de macromoléculas purificadas que se utilizan en la actualidad como vacunas.

11. Un ejemplo de vacunación pasiva se observa cuando las madres Rh^- con fetos Rh^+ reciben RhoGAM, anticuerpos humanizados contra el antígeno Rh^+. ¿Por qué esta vacuna no causa hemaglutinación en el neonato?

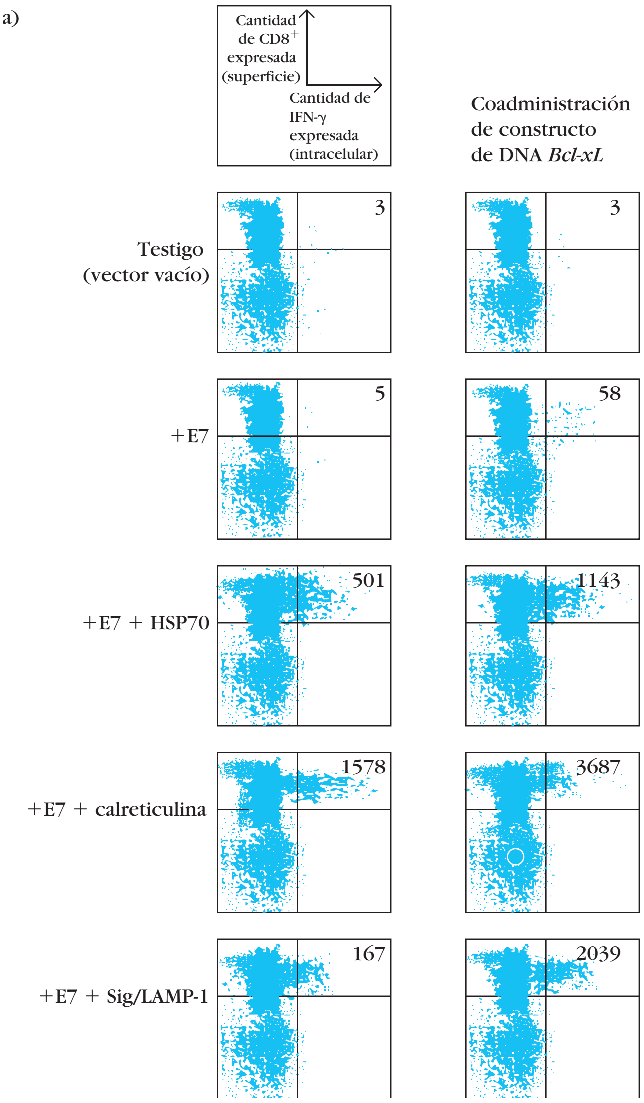
12. Algunos padres eligen no vacunar a sus hijos. Algunas razones son religión, reacciones alérgicas, temor de que el niño contraiga la enfermedad contra la cual está dirigida la vacuna y, en fechas recientes, un temor, sin bases científicas, de que las vacunas causen autismo. ¿Cuál sería la consecuencia de que una proporción significativa de la población no fuera vacunada contra enfermedades de la niñez, como sarampión o tos ferina?

13. Para cada una de las siguientes enfermedades indique el tipo de vacuna utilizado:
   a. Poliomielitis
   b. Varicela
   c. Tétanos
   d. Hepatitis B
   e. Cólera
   f. Sarampión
   g. Paperas

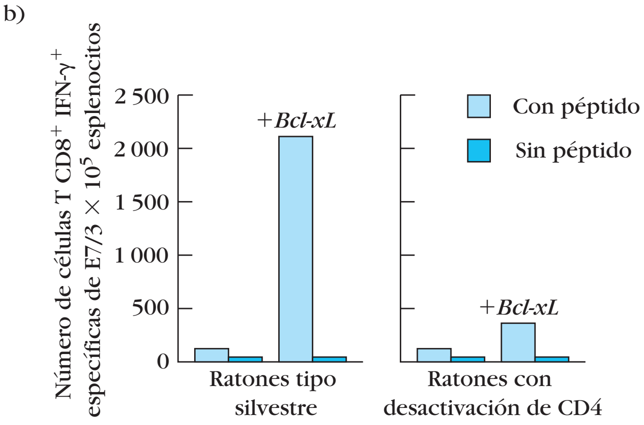
   1. Desactivada
   2. Atenuada
   3. Exotoxina desactivada
   4. Macromolécula purificada

ANALICE LOS DATOS T. W. Kim y colaboradores (*J. Immunol.* **171**:2970, 2003) investigaron métodos para estimular la inmunorreacción contra el antígeno 16 E7 del virus del papiloma humano (HPV). Vacunaron grupos de ratones con los siguientes antígenos incorporados en constructos vacunales de DNA:

- + Antígeno E7 de HPV
- + E7 + proteína 70 de choque térmico (HSP70)
- + E7 + calreticulina
- + E7 + señal de ordenamiento de proteína 1 de membrana relacionada con lisosoma (Sig/LAMP-1)



Tinción de citocinas intracelulares seguida de citometría de flujo para determinar la respuesta de células T CD8$^+$ específicas de E7 en ratones que recibieron vacunas de DNA con estrategias de direccionamiento intracelular. Al grupo de la derecha se coadministró un constructo de DNA que contenía el gen antiapoptosis *Bcl-xL*. El número en el ángulo superior derecho en cada grupo es el número de células. *[© 2003 The American Association of Immunologists, Inc.]*



Respuesta de células T CD8$^+$ específicas de E7 en ratones con desactivación de CD4 vacunados con el constructo de DNA +E7 +Sig/LAMP-1, con o sin el constructo de DNA +*Bcl-xL*.

Un segundo grupo de ratones recibió las mismas vacunas de DNA junto con un constructo adicional de DNA en el que se incorporaba el gen antiapoptosis *Bcl-xL*. Para probar la eficacia de estos constructos vacunales de DNA en la inducción de una respuesta del hospedador, siete días después de la inyección se obtuvieron células esplénicas de los ratones vacunados y se incubaron in vitro con péptido E7 restringido a MHC clase I (aa 49-57) toda una noche. Después se tiñeron las células de manera que se detectaran CD8 e IFN-γ (figura a). En otro experimento Kim y sus colaboradores determinaron la eficacia de sus vacunas en ratones carentes de células T CD4$^+$ (figura b).

a. ¿Cuál o cuáles vacunas de DNA son más eficaces para inducir una inmunorreacción contra el antígeno E7 del virus del papiloma humano? Explique su respuesta.

b. Proponga una hipótesis para explicar por qué la expresión de calreticulina en el constructo vacunal fue eficaz para inducir células T CD8$^+$.

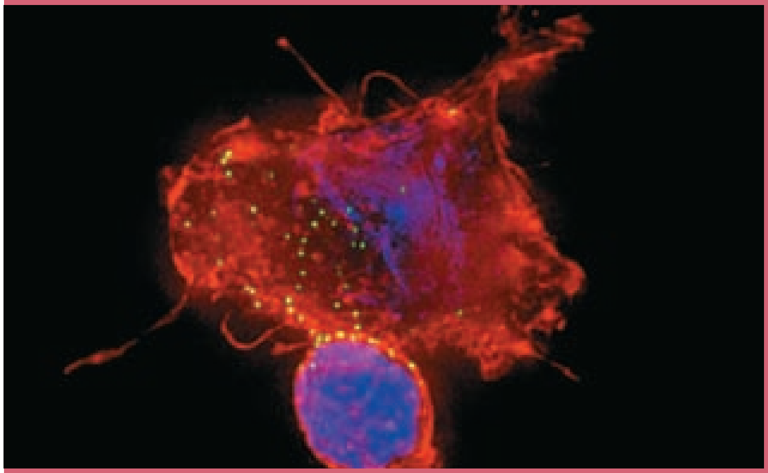
c. Proponga un mecanismo para explicar los datos de la figura a.

d. Suponiendo que el constructo +E7 +Sig/LAMP-1 es el único que dirige el antígeno a la vía de procesamiento de MHC clase II, proponga una hipótesis para explicar por qué el antígeno dirigido a moléculas MHC clase II fomenta una reacción de células T CD8$^+$. ¿Cuál cree que sea la razón de que haya sido necesaria una señal especial para dirigir el antígeno hacia el MHC II?

e. ¿Cuáles cuatro variables contribuyen a la reacción de linfocitos T CD8$^+$ específica de E7 in vitro, según se mide en la figura b?

capítulo 20

SIDA y otras inmunodeficiencias



Viriones de VIH-1 (puntos verdes) pasan de una célula dendrítica (arriba) a una célula T. [Cortesía de Thomas J. Hope, Northwestern University.]

- Inmunodeficiencias primarias
- SIDA y otras inmunodeficiencias adquiridas o secundarias

Al igual que cualquier otro sistema complejo de componentes múltiples, el sistema inmunitario está sujeto a fallos de algunas o todas sus partes. Estos fallos pueden tener graves consecuencias. Cuando el sistema pierde el sentido de lo propio y ataca las células y los tejidos del hospedador, el resultado es la **autoinmunidad**, que se describe en el capítulo 16. Cuando el sistema yerra y no protege al hospedador contra los agentes causantes de enfermedad o las células malignas, el resultado es la **inmunodeficiencia**, que es el tema de este capítulo.

El estado resultante de un defecto genético o del desarrollo del sistema inmunitario se denomina *inmunodeficiencia primaria*. En este caso, el defecto está presente ya al nacer, aunque quizá no se manifieste sino hasta más tarde en la vida. La inmunodeficiencia secundaria, o adquirida, es la pérdida de la función inmunitaria y es efecto de la exposición a diversos agentes. Desde luego, la inmunodeficiencia secundaria más frecuente es el **síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA)**, resultante de la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana 1 (VIH-1).

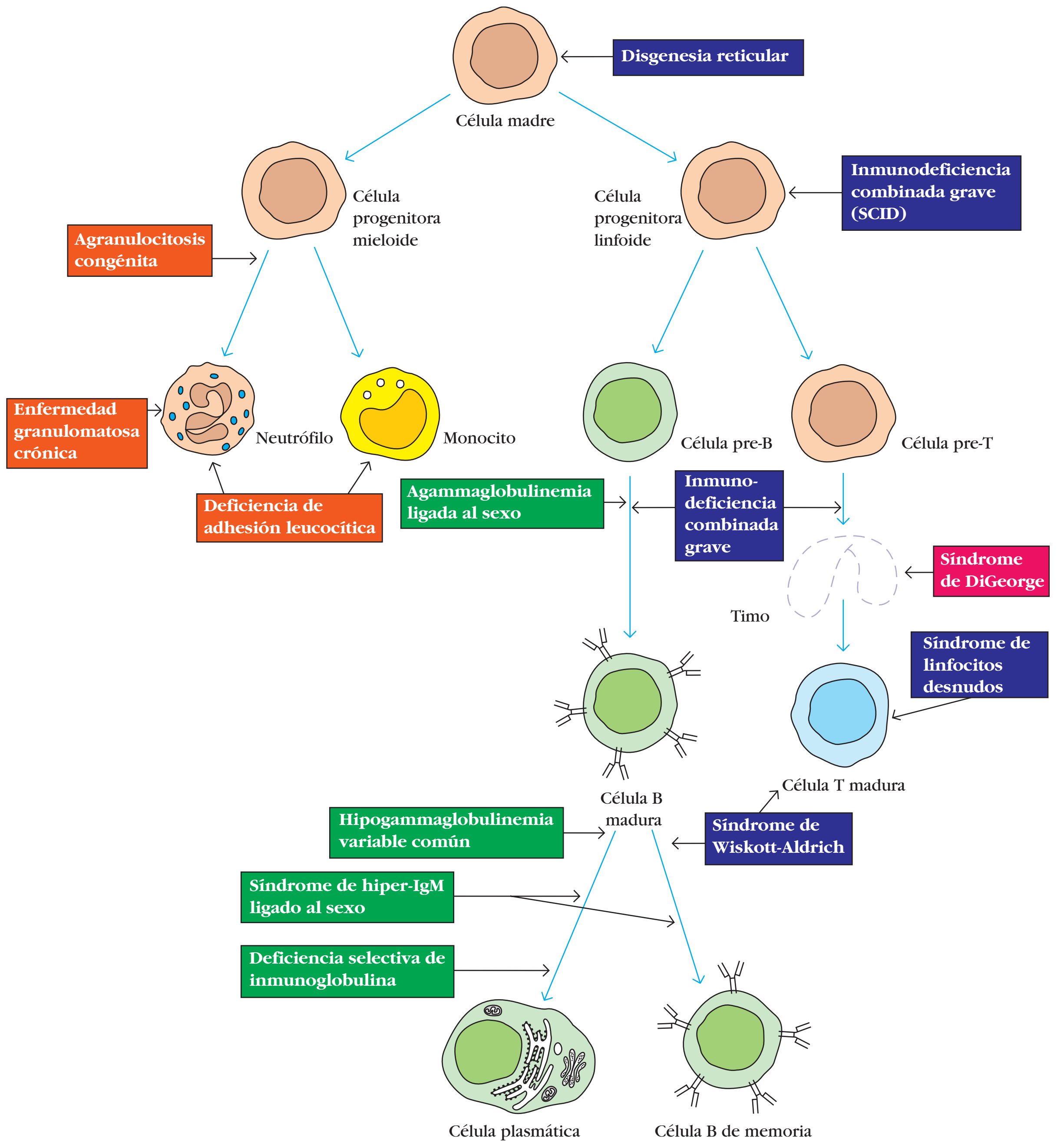
En 2005, el SIDA mató alrededor de 3.1 millones de personas, incluidos unos 500 000 niños menores de cinco años de edad. La infección por el VIH aún se propaga a un ritmo estimado de 14 000 personas por día. Los pacientes con SIDA, al igual que cualquier otro sujeto con inmunodeficiencia grave, están en riesgo de infectarse por los llamados microorganismos oportunistas. Se trata de agentes que puede albergar el individuo normal en su cuerpo sin consecuencias dañinas, pero que provocan enfermedad en quienes experimentan trastorno de la función inmunitaria.

En la primera parte de este capítulo se describen las inmunodeficiencias primarias frecuentes, se examina el progreso en la identificación de los defectos genéticos subyacentes a estos trastornos y se consideran los criterios para su tratamiento, entre ellos los usos innovadores de la terapia génica. Se describen también modelos animales de la inmunodeficiencia primaria. En el resto del capítulo se describe la inmunodeficiencia adquirida, haciendo hincapié en la infección por el virus de la inmunodeficiencia humana y su efecto en el sistema inmunitario, el SIDA; también se revisa el estado actual de las medidas terapéuticas y preventivas para combatir esta letal inmunodeficiencia.

Inmunodeficiencias primarias

Una inmunodeficiencia primaria puede afectar las funciones inmunitarias adaptativas o innatas. Por este motivo, las deficiencias que afectan componentes de la inmunidad adaptativa, como las células T o B, se diferencian de las inmunodeficiencias en las que están trastornados los mediadores inespecíficos de la inmunidad innata, como los fagocitos o el complemento. Por conveniencia, las inmunodeficiencias se clasifican según el tipo o la etapa del desarrollo de las células afectadas. En la figura 20-1 se revisa el desarrollo celular global del sistema inmunitario, y se muestran las localizaciones de los defectos que dan origen a las inmunodeficiencias primarias. Como se explicó en el capítulo 2, los dos linajes celulares principales de importancia para la función inmunitaria son el linfoide y el mieloide. La mayor parte de los defectos que causan inmunodeficiencia implican uno u otro. Las alteraciones de las células linfoides pueden afectar células T, células B o, en las inmunodeficiencias combinadas, las dos clases celulares. Los trastornos de las células mieloides alteran la función fagocítica. En su mayor parte, las inmunodeficiencias primarias son hereditarias, y se han identificado las variaciones moleculares precisas y los defectos genéticos que generan muchas de estas disfunciones (cuadro 20-1 y fig. 20-2). Además, existen inmunodeficiencias consecutivas a defectos del desarrollo que alteran la función de un órgano del sistema inmunitario.

FIGURA 20-1 PARA VISUALIZACIÓN DE CONCEPTOS: Los defectos congénitos que interrumpen la hematopoyesis o trastornan el funcionamiento de las células del sistema inmunitario causan diversas enfermedades por inmunodeficiencia


Disgenesia reticular
Célula madre
Célula progenitora mieloide
Célula progenitora linfoide
Inmunodeficiencia combinada grave (SCID)
Agranulocitosis congénita
Enfermedad granulomatosa crónica
Neutrófilo
Monocito
Célula pre-B
Célula pre-T
Deficiencia de adhesión leucocítica
Agammaglobulinemia ligada al sexo
Inmuno-deficiencia combinada grave
Síndrome de DiGeorge
Timo
Síndrome de linfocitos desnudos
Célula B madura
Célula T madura
Hipogammaglobulinemia variable común
Síndrome de Wiskott-Aldrich
Síndrome de hiper-IgM ligado al sexo
Deficiencia selectiva de inmunoglobulina
Célula plasmática
Célula B de memoria

Recuadros anaranjados, deficiencias fagocíticas; recuadros verdes, deficiencias humorales; recuadros rojos, deficiencias mediadas por células, y recuadros purpúreos, inmunodeficiencias combinadas, defectos que afectan más de un linaje celular.

CUADRO 20-1 Algunas enfermedades humanas de inmunodeficiencia primaria y defectos genéticos subyacentes

Enfermedad de inmunodeficiencia	Defecto específico	Función trastornada	Modo de herencia*	Defecto cromosómico
Inmunodeficiencia combinada grave (SCID)	Deficiencia de *RAG-1* y *RAG-2*	No hay reordenamiento del gen para receptor de célula T (TCR) o Ig	AR	11p13
	Deficiencia de ADA	Metabolito tóxico en las células T y B	AR	20q13
	Deficiencia de PNP		AR	14q13
	Deficiencia de JAK-3	Señales defectuosas de IL-2, 4, 7, 9, 15	AR	19p13
	Deficiencia de IL-2Rγ		XL	Xq13
	Deficiencia de ZAP-70	Señal defectuosa de TCR	AR	2q12
Síndrome de linfocitos desnudos	Defecto en el gen promotor de MHC clase II	No hay moléculas MHC clase II	AR	16p13
Síndrome de Wiskott-Aldrich (WAS)	Proteína citoesquelética (CD43)	Células T y plaquetas defectuosas	XL	Xp11
Receptor de interferón γ	Defecto del receptor de IFN-γ	Inmunidad contra las micobacterias trastornada	AR	6q23
Síndrome de DiGeorge	Aplasia tímica	Desarrollo de las células T y B	AD	22q11
Ataxia-telangiectasia	Cinasa del ciclo celular defectuosa	IgA e IgE bajas	AR	11q22
Gammaglobulinemias	Agammaglobulinemia ligada al sexo	Tirosincinasa de Bruton (Btk); no hay células B maduras	XL	Xq21
	Síndrome de hiper-IgM ligado al sexo	Ligando de CD40 defectuoso	XL	Xq26
	Inmunodeficiencia variable común	IgG e IgA bajas; IgM variable	Complejo	
	Deficiencia selectiva de IgA	IgA baja o ausente	Complejo	
Enfermedad granulomatosa crónica	Cyt p91^{phox}	No hay explosión oxidativa para matar las bacterias	XL	Xp21
	Cyt p67^{phox}		AR	1q25
	Cyt p22^{phox}		AR	16q24
Síndrome de Chédiak-Higashi	Proteína de transporte intracelular (LYST) defectuosa	Incapacidad de lisar bacterias	AR	1q42
Defecto de adhesión leucocítica	Integrina β2 (CD18) defectuosa	Extravasación de leucocitos	AR	21q22

*AR, autosómico recesivo; AD, autosómico dominante; XL, ligado al sexo; la palabra "complejo" indica trastornos sobre los que no se dispone de datos genéticos y que pueden abarcar varios loci en interacción.

Las consecuencias de la inmunodeficiencia primaria dependen del número y el tipo de componentes dañados de este sistema. Los defectos de los elementos situados al principio del esquema del desarrollo hematopoyético afectan todo el sistema inmunitario. En esta categoría se encuentra la disgenesia reticular, defecto de las células madre que altera la maduración de todos los leucocitos; el fallo general resultante de la inmunidad causa susceptibilidad a las infecciones por diversos microorganismos. Sin tratamiento enérgico, el individuo afectado suele morir a una edad temprana a causa de infección grave. En el caso más restringido de función fagocítica defectuosa, la principal consecuencia es susceptibilidad a las infecciones bacterianas. Los defectos de los compartimientos más diferenciados del sistema inmunitario tienen consecuencias que son más específicas y casi siempre menos graves. Por ejemplo, el sujeto con deficiencia selectiva de IgA puede disfrutar de una vida plena y prolongada, afligido tan sólo por una susceptibilidad mayor que la normal a las infecciones de las vías respiratorias y genitourinarias.

Las inmunodeficiencias linfoides pueden incluir células T, células B o ambas

Las formas combinadas de inmunodeficiencia linfoide afectan ambos linajes y suelen ser letales dentro de los primeros años de la vida; se originan en defectos que causan disfunción de múltiples tipos celulares o de interacciones necesarias para montar inmunorreacciones. Son menos frecuentes, y por lo regular menos graves, que los trastornos resultantes de defectos de las células linfoides más diferenciadas.

Los trastornos de inmunodeficiencia de células B constituyen un espectro de enfermedades variable, desde la ausencia

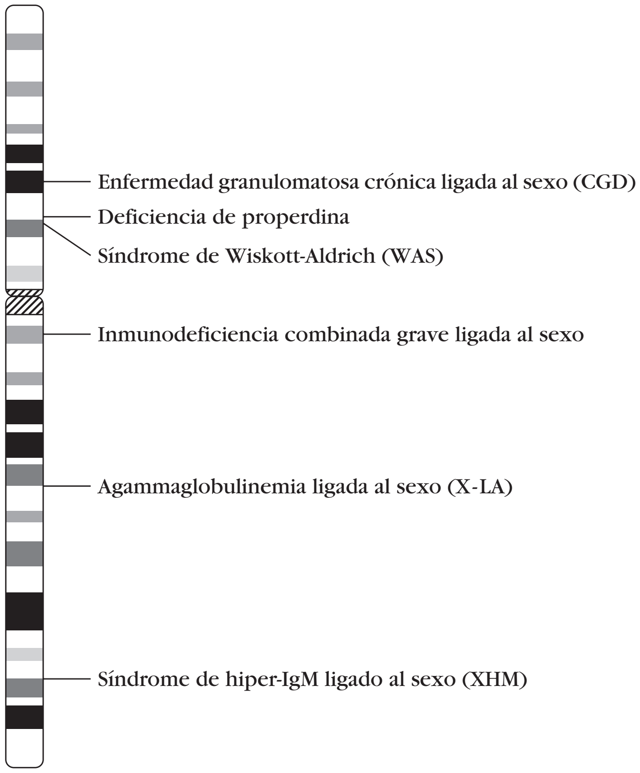

Enfermedad granulomatosa crónica ligada al sexo (CGD)
Deficiencia de properdina
Síndrome de Wiskott-Aldrich (WAS)
Inmunodeficiencia combinada grave ligada al sexo
Agammaglobulinemia ligada al sexo (X-LA)
Síndrome de hiper-IgM ligado al sexo (XHM)

FIGURA 20-2 Diversas enfermedades por inmunodeficiencia ligada al sexo se deben a defectos en ciertos loci del cromosoma X. *[Datos de la página web del National Center for Biotechnology Information.]*

completa de células B recirculantes maduras, células plasmáticas e inmunoglobulina, hasta la ausencia selectiva de sólo ciertas clases de inmunoglobulinas. Con frecuencia, las personas con estas alteraciones padecen infecciones bacterianas recurrentes, pero manifiestan inmunidad normal contra casi todas las infecciones víricas y micóticas, ya que la rama de células T de su sistema inmunitario está en mayor medida indemne. Más comunes en los individuos con inmunodeficiencias humorales son las infecciones por bacterias encapsuladas, como estafilococos, estreptococos y neumococos, dado que los anticuerpos son de importancia crítica para la opsonización y la depuración de estos microorganismos.

En virtud de la función central de las células T en el sistema inmunitario, su deficiencia puede afectar las reacciones humoral y mediada por células. El efecto sobre el sistema mediado por células puede ser grave, con reducción de las reacciones de hipersensibilidad tardía y la citotoxicidad mediada por células. Las deficiencias de inmunoglobulinas se acompañan sobre todo de infecciones recurrentes por bacterias extracelulares, pero las personas afectadas tienen reacciones normales a las bacterias intracelulares, al igual que a las infecciones víricas y micóticas. En contraste, los defectos del sistema mediado por células se acompañan de aumento de la susceptibilidad a las infecciones víricas, por protozoarios y micóticas. Muchas veces los patógenos intracelulares causantes son *Candida albicans, Pneumocystis carinii* y micobacterias, lo que refleja la importancia de las células T para eliminar los agentes de esta clase. Las infecciones por virus que rara vez son patógenos para los sujetos normales (como citomegalovirus o incluso el virus atenuado de la vacuna contra el sarampión) pueden poner en peligro la vida de quienes tienen trastornada la inmunidad mediada por células. Los defectos que producen menores recuentos de células T afectan también el sistema humoral a causa de la necesidad de células T_H en la activación de las células B. En general, se advierte cierto decremento de las concentraciones de anticuerpos, de manera particular en la producción de anticuerpos específicos después de las inmunizaciones.

Como cabría esperar, las deficiencias combinadas de las ramas humoral y mediada por células constituyen los más graves de los trastornos de inmunodeficiencia. Las infecciones aparecen muy pronto durante la lactancia y el pronóstico para estos niños es la muerte rápida, a menos que la intervención terapéutica reconstituya su sistema inmunitario defectuoso. Como se describe más adelante, se cuenta cada vez con más opciones para el tratamiento de las inmunodeficiencias.

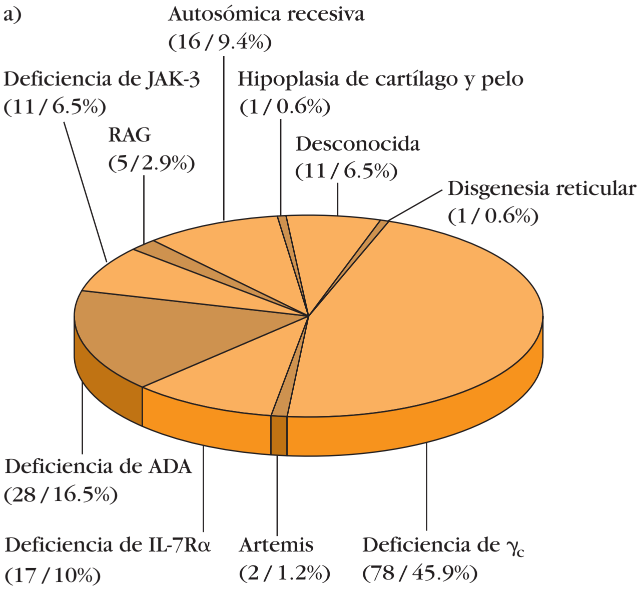
Las que alteran la función linfoide tienen en común la incapacidad de activar o sostener una inmunorreacción completa contra patógenos específicos. Son diversos los fallos que dan origen a esta inmunodeficiencia. La comunicación intercelular defectuosa puede estar enraizada en mutaciones dañinas de genes que codifican receptores de superficie celular o moléculas de transducción de señales; ciertos defectos de los mecanismos de reordenamiento génico y de otras funciones impiden las reacciones normales de las células B o T. La figura 20-3 es una revisión general de las moléculas que participan en las interacciones mejor descritas entre las células T y B que precipitan reacciones específicas, con enfoque particular en las proteínas en las que se han identificado defectos que causan inmunodeficiencia.

Inmunodeficiencia combinada grave (SCID)

Los padecimientos que componen la familia de la SCID se deben a defectos del desarrollo linfoide que afectan células T, solas o en combinación con células B y NK. Dependiendo del defecto genético subyacente, un paciente con SCID puede tener uno de varios fenotipos de células linfoides. Todos se caracterizan por funcionamiento defectuoso de las células T, y la disfunción puede extenderse a células B, NK o ambas. Dado que los defectos en las células T son el elemento común en la SCID, una prueba de tamizado recién descrita para este trastorno en neonatos incluye el análisis de asas de DNA escindidas del locus de TCR en células sanguíneas, que son prueba de reordenamiento del gen para TCR. Los resultados anormales en esta prueba permiten establecer el diagnóstico temprano antes del inicio de las infecciones que ponen en peligro la vida.

Todas las formas de SCID tienen aspectos en común a pesar de las diferencias relacionadas con los defectos genéticos subyacentes. Desde el punto de vista clínico, la SCID se caracteriza por un número muy bajo de linfocitos circulantes. Se observa incapacidad de inducir inmunorreacciones mediadas por células T. No se desarrolla el timo, y los pocos linfocitos T circulantes del paciente con SCID no reaccionan a la estimulación por factores mitógenos, lo que indica que no son capaces de proliferar en respuesta a los antígenos. Las células mieloides y eritroides (precursoras de los eritrocitos) son normales en número y función, lo que indica que sólo son deficientes las células linfoides en caso de SCID.

La SCID tiene como resultado diversas infecciones recurrentes y a menudo es letal durante los primeros años de la vida.



b)

Fenotipo de los linfocitos			
T	**B**	**NK**	**Tipo de SCID**
−	+	−	Deficiencia de la cadena γ de IL-2R ligada al sexo Deficiencia de JAK-3 Deficiencia de CD45
−	+	+	Deficiencia de la cadena α de IL-7R Deficiencia de la cadena δ de CD3
−	−	−	Deficiencia de adenosindesaminasa (ADA)
−	−	+	Deficiencia de *RAG1* o *RAG2* Deficiencia de Artemis

FIGURA 20-3 Causas de SCID. a) Distribución de defectos genéticos en 170 casos de SCID sometidos a seguimiento de 35 años. b) Fenotipos celulares relacionados con diferentes defectos genéticos observados en SCID. *[Parte a adaptada de R. H. Buckley, 2004,* Annual Review of Immunology ***22****:625.]*

Aunque pueden ser afectados los linajes de células T y B, la manifestación inicial de la SCID en lactantes es casi siempre una infección por microorganismos, como hongos o virus, a los que habitualmente controla la inmunidad mediada por células T. Los defectos en el linaje de células B no son manifiestos durante los primeros meses de la vida de los lactantes afectados, ya que durante la vida fetal han obtenido anticuerpos de manera pasiva de su madre por vía transplacentaria, o los reciben con la leche materna. Los lactantes con SCID sufren diarrea crónica, neumonía y lesiones de piel, boca y garganta, lo mismo que otras numerosas infecciones oportunistas. El sistema inmunitario está tan trastornado, que incluso las vacunas de microorganismos vivos atenuados (como la vacuna Sabin contra la poliomielitis) pueden provocar infección y enfermedad. La vida del paciente con SCID puede prolongarse si se previene su contacto con todos los microorganismos potencialmente dañinos, por ejemplo al confinarlo en una atmósfera estéril. Sin embargo, se requieren esfuerzos extraordinarios para prevenir el contacto directo con otras personas y aire no filtrado; cualquier objeto —incluso el alimento— que entra en contacto con el paciente de SCID debe esterilizarse de antemano. Este aislamiento es factible sólo como medida temporal, en espera del tratamiento definitivo.

La búsqueda de defectos subyacentes a la SCID ha revelado varias causas distintas de esta falla general de la inmunidad. La investigación de Rebecca Buckley en 170 pacientes indicó que la causa más frecuente (78 casos; fig. 20-3) era deficiencia de la cadena γ común del receptor de IL-2 (IL-2Rγ; fig. 12-7). Los defectos en esta cadena impiden la señalización no sólo a través de IL-2R, sino también a través de los receptores de IL-4, IL-7, IL-9 e IL-15, dado que la cadena se encuentra en los receptores para todas estas citocinas. En 11 de los casos había deficiencia de la cinasa JAK-3, que tiene un fenotipo semejante, puesto que los receptores de IL señalizan a través de esta molécula (fig. 12-7c). Un defecto más, recién descubierto en el receptor de citocina, se observó en 17 de los pacientes, y afectó sólo al receptor de IL-7; estos individuos tienen células T alteradas pero células B y NK normales.

Otro defecto frecuente es la deficiencia de adenosindesaminasa (ADA), que se encontró en 28 pacientes del estudio. La ADA cataliza la conversión de adenosina en inosina, y su deficiencia da por resultado acumulación de la primera, que interfiere en el metabolismo de las purinas y la síntesis de DNA. Una consecuencia son defectos en las células T, B y NK. Los defectos en los genes activadores de recombinasa (*RAG-1* y *RAG-2*), observados en cinco pacientes, afectan los reordenamientos normales de los genes para TCR e inmunoglobulina y ocasionan la ausencia de células T y B funcionales, pero no influyen en las células NK. Como se describe en los capítulos 5 y 9, tanto los genes de inmunoglobulina como los de receptor de célula T requieren reordenamiento para expresar las formas activas de sus productos. Los casos restantes fueron casos aislados de disgenesia reticular y displasia de cartílago y pelo, o bien se clasificaron como defectos autosómicos recesivos no relacionados con mutaciones conocidas de IL-2Rγ o JAK-3. Dos de los pacientes tenían defectos en el gen llamado *Artemis* (*Artemisa*), que codifica una enzima de reparación y recombinación de DNA. En un caso se observó un defecto en el gen para la fosfatasa de superficie celular CD45. Resulta interesante que este defecto causó la ausencia de células T αβ pero no afectó el linaje γδ, y dio por resultado cantidades elevadas de células B. De los 170 casos, 11 tenían origen desconocido, sin un defecto genético manifiesto o antecedentes familiares de inmunodeficiencia.

Otros defectos alteran el funcionamiento de las células T y provocan deficiencias tipo SCID. Uno se caracteriza por la deficiencia de células T $CD8^+$ que incluye la cinasa de la tirosina ZAP-70, elemento importante para la transducción de señales de la célula T (fig. 10-11). Los lactantes con defectos de la ZAP-70 pueden tener concentraciones normales de inmunoglobulinas y linfocitos T $CD4^+$, pero estas células son afuncionales. Una deficiencia de la enzima fosforilasa de nucleósido de purina (PNP) ocasiona inmunodeficiencia por un mecanismo similar al del defecto de la ADA. Una anomalía que provoca fallo general de la inmunidad semejante a la SCID es la incapacidad de transcribir genes que codifican moléculas MHC clase II. Sin estas moléculas, los linfocitos de la persona no pueden intervenir en las interacciones celulares con las células T colaboradoras.

La inmunodeficiencia de este tipo recibe también el nombre de *síndrome de linfocitos desnudos* (véase el enfoque clínico del cap. 8). Los estudios moleculares de una deficiencia de MHC clase II revelaron una interacción defectuosa entre una secuencia 5′ promotora del gen para la molécula MHC clase II y una proteína de fijación del DNA necesaria para la transcripción génica. Otros pacientes con síntomas semejantes a los de la SCID carecen de moléculas MHC clase I. Esta rara variante de la inmunodeficiencia se atribuyó a mutación de los genes TAP, que son vitales para el procesamiento de antígenos por las moléculas MHC clase I. Esta anormalidad causa un déficit de la inmunidad mediada por células CD8 que se caracteriza por susceptibilidad a las enfermedades víricas.

Síndrome de Wiskott-Aldrich (WAS)

La gravedad de este trastorno ligado al sexo (ligado al cromosoma X) aumenta con el paso de la edad y las más de las veces provoca infección letal o enfermedad linfoide maligna. Al principio, el individuo posee números normales de linfocitos T y B. El WAS se manifiesta por primera vez mediante reacciones defectuosas a los polisacáridos bacterianos, así como por concentraciones de IgM menores que las promedio normales. Otras reacciones y mecanismos efectores son normales durante las etapas incipientes del síndrome. A medida que aumenta la edad del sujeto sobrevienen infecciones bacterianas recurrentes y pérdida gradual de las reacciones humorales y celulares. Además, se distingue por trombocitopenia (recuento de plaquetas disminuido; las plaquetas existentes son más pequeñas de lo normal y tienen vida media breve), lo que puede ocasionar hemorragia letal. También se observa eccema (erupciones cutáneas) de gravedad variable, casi siempre hacia el año de edad. El defecto del WAS se ha rastreado hasta el brazo corto del cromosoma X (cuadro 20-1 y fig. 20-2) y afecta una glucoproteína citoesquelética que se encuentra en las células linfoides denominada sialoforina (CD43). La proteína del WAS es necesaria para el ensamblaje de filamentos de actina requeridos para la formación de microvesículas.

Defecto del receptor de interferón γ

Una inmunodeficiencia descrita en fecha reciente, incluida en la categoría de células mixtas, se caracteriza por un defecto en el receptor del interferón γ (IFN-γ, cap. 12). Esta deficiencia se reconoció en sujetos que sufrían infección por micobacterias atípicas (microorganismos intracelulares relacionados con las bacterias causantes de tuberculosis y lepra). Casi todos los portadores de este rasgo autosómico recesivo pertenecen a familias con antecedentes de endogamia. La susceptibilidad a la infección por micobacterias es selectiva, toda vez que los que sobreviven a estas infecciones no suelen ser susceptibles a otros agentes, entre ellos otras bacterias intracelulares. Esta inmunodeficiencia señala una función específica del IFN-γ y su receptor específico en la protección contra las infecciones por micobacterias. Análisis detallados de pacientes con alta frecuencia de infecciones micobacterianas revelaron defectos en el receptor de IL-2 así como en el receptor de IFN-γ. Una predisposición similar a estas infecciones resulta de defectos en la vía de NFκB, que impiden la activación transcripcional de genes de IFN-γ. Un defecto más complejo, que a veces se vincula con anormalidades de la pigmentación de dientes y piel así como infección por micobacterias, se observa en pacientes con defectos en la subunidad proteínica IKK designada NEMO. Recuérdese que IKK media la liberación de NFκB desde su inhibidor, lo que le permite migrar al núcleo, donde activa genes de inmunorreacción (fig. 10-12).

Mientras que la SCID y las inmunodeficiencias combinadas relacionadas afectan las células T, o todas las células linfoides, otras inmunodeficiencias primarias lo hacen con la función de la célula B y tienen como resultado reducción o ausencia de algunas o todas las clases de inmunoglobulinas. Aunque se han identificado los defectos subyacentes de algunos de estos casos, al parecer en varias de las deficiencias más frecuentes, como inmunodeficiencia variable común y deficiencia selectiva de IgA, están implicados múltiples genes y un continuo de fenotipos.

Agammaglobulinemia ligada al sexo

Un defecto de la célula B llamado agammaglobulinemia ligada al sexo (X-LA) o hipogammaglobulinemia de Bruton se caracteriza por concentraciones en extremo bajas de IgG y ausencia de otras clases de inmunoglobulinas. Los individuos con X-LA no tienen células B periféricas y sufren infecciones bacterianas recurrentes, más o menos a partir de los nueve meses de edad. Un tratamiento paliativo para este trastorno es la administración periódica de inmunoglobulina, pero quienes lo sufren rara vez sobreviven a la adolescencia. Se observa un fallo de la transducción de señales de la célula B, debido a un defecto en una molécula de transducción llamada tirosincinasa de Bruton (Btk) en honor del investigador que describió el síndrome. Las células B del paciente con X-LA permanecen en la etapa pre-B con cadenas H redistribuidas pero cadenas L en su configuración de línea germinal. (El enfoque clínico del cap. 11 describe con detalle el descubrimiento de esta inmunodeficiencia y su defecto subyacente.)

Síndrome de hiper-IgM ligado al sexo

En fecha reciente se demostró que una deficiencia peculiar de inmunoglobulina, que al principio se consideró que era resultado de un defecto de la célula B, se debe más bien a un defecto en una molécula de superficie de la célula T. El síndrome de hiper-IgM ligado al sexo (XHM) se distingue por deficiencia de IgG, IgA e IgE y concentraciones elevadas de IgM, algunas veces hasta de 10 mg/ml (la concentración normal de IgM es de 1.5 mg/ml). Aunque los individuos con XHM tienen cifras normales de células B que expresan IgM o IgD de membrana, al parecer carecen de células B que expresan IgG, IgA o IgE de membrana. Por lo general, el síndrome XHM se hereda como trastorno recesivo ligado al sexo (fig. 20-2), pero algunas formas parecen ser adquiridas y afectar a varones y mujeres. Los individuos afectados tienen recuentos elevados de células plasmáticas secretoras de IgM en la sangre periférica y el tejido linfoide. Además, tienen con frecuencia concentraciones elevadas de autoanticuerpos contra neutrófilos, plaquetas y eritrocitos. Los niños con síndrome XHM sufren infecciones recurrentes, en especial de las vías respiratorias; su gravedad es mucho mayor que la esperada para una deficiencia que se caracteriza por concentraciones bajas de inmunoglobulinas.

El defecto en el síndrome XHM se encuentra en el gen que codifica el ligando de CD40 (CD40L o CD154), que se halla en el cromosoma X. Las células T_H de los pacientes con síndrome

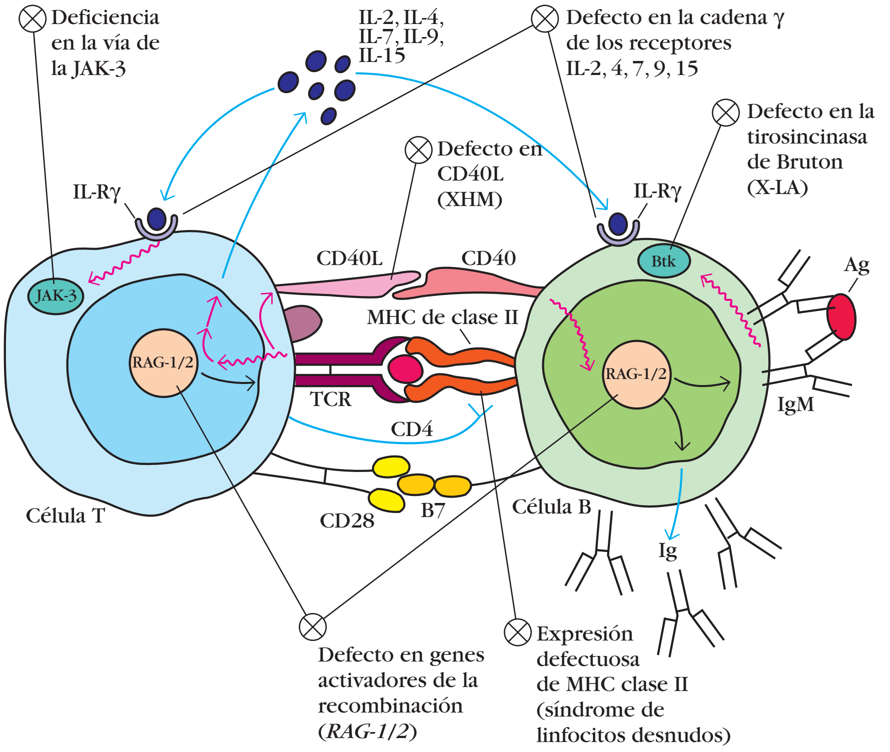

Deficiencia en la vía de la JAK-3
IL-2, IL-4, IL-7, IL-9, IL-15
Defecto en la cadena γ de los receptores IL-2, 4, 7, 9, 15
Defecto en la tirosincinasa de Bruton (X-LA)
Defecto en CD40L (XHM)
IL-Rγ
IL-Rγ
Btk
Ag
CD40L
CD40
JAK-3
MHC de clase II
RAG-1/2
RAG-1/2
TCR
CD4
IgM
Célula T
CD28
B7
Célula B
Ig
Defecto en genes activadores de la recombinación (*RAG-1/2*)
Expresión defectuosa de MHC clase II (síndrome de linfocitos desnudos)

FIGURA 20-4 Los defectos de la interacción y la señalización celulares pueden ocasionar inmunodeficiencia grave. En esta figura se ilustra la interacción de las células T y B con diversos componentes importantes para las vías de señalización intracelular y extracelular. Varias inmunodeficiencias primarias se originan en defectos de estas interacciones. La SCID puede provocar defectos en 1) los genes activadores de la recombinación (*RAG-1* y *RAG-2)* requeridos para la síntesis de las inmunoglobulinas funcionales y receptores de las células T que caracterizan a las células maduras B y T; 2) la cadena γ de los receptores de IL-2, 4, 7, 9 y 15 (IL-Rγ); 3) la cinasa JAK-3, que transduce señales para la cadena γ del receptor de citocina, o 4) expresión de la molécula MHC clase II (síndrome de linfocitos desnudos). La X-LA es resultado de la transducción defectuosa de las señales activadoras provenientes de la IgM de la superficie celular por la tirosincinasa de Bruton (Btk). El síndrome XHM es consecuencia de defectos en CD40L que impiden la maduración normal de la células B. *[Adaptada de B. A. Smart y H. D. Ochs, 1997,* Current Opinion in Pediatrics ***9**:570.]*

XHM no expresan CD40L funcional en su membrana. Como se requiere la interacción entre CD40 en la célula B y CD40L en la célula T_H para la activación de la célula B, la ausencia de esta señal coestimuladora inhibe la reacción de la célula B a los antígenos dependientes de célula T (fig. 11-12). Sin embargo, la reacción de la célula B a los antígenos independientes de la célula T no se altera por este defecto, lo que explica la producción de anticuerpos IgM. Como se describió en el capítulo 11, para el cambio de clase y la formación de células B de memoria se requiere el contacto con células T_H por medio de la interacción entre CD40 y CD40L. La ausencia de esta interacción en el síndrome XHM causa la pérdida del cambio de clase a los isotipos IgG, IgA o IgE y la incapacidad de producir células B de memoria. Además, los individuos con síndrome XHM no producen centros germinales durante la reacción humoral, lo que pone de relieve la importancia de la interacción entre CD40 y CD40L para la generación de estos centros germinales. En la inmunodeficiencia linfoide son comunes los defectos en las interacciones celulares, como se muestra en la figura 20-4.

Inmunodeficiencia variable común (CVI)

La CVI se caracteriza por notable disminución de las cifras de células plasmáticas productoras de anticuerpo, concentraciones bajas de la mayor parte de los isotipos de inmunoglobulinas (hipogammaglobulinemia) e infecciones recurrentes. Este trastorno suele manifestarse más tarde durante la vida que las otras deficiencias y en ocasiones se denomina hipogammaglobulinemia de inicio tardío o, de forma incorrecta, hipogammaglobulinemia adquirida. No obstante, la CVI tiene un componente genético y se considera una inmunodeficiencia primaria, aunque no se conoce su patrón preciso de herencia. Como sus manifestaciones son muy semejantes a las de la hipogammaglobulinemia adquirida, hay cierta confusión entre ambas formas (véase más adelante). Con más frecuencia, las infecciones en quienes sufren CVI son bacterianas y se pueden controlar mediante administración de inmunoglobulina. En quienes padecen este defecto las células B no maduran hasta células plasmáticas; empero, los estudios in vitro demuestran que las células B de los casos de CVI son capaces de madurar como reacción a las señales de diferenciación apropiadas. No se conoce el efecto subyacente en la CVI, pero debe incluir un bloqueo in vivo de la maduración de las células B hasta la etapa de células plasmáticas o incapacidad de éstas para producir las formas secretorias de inmunoglobulinas.

Síndrome de hiper-IgE (síndrome de Job)

Existe una inmunodeficiencia primaria que se caracteriza por abscesos cutáneos, neumonía recurrente, eccema y concentraciones elevadas de IgE y se acompaña de anormalidades faciales y fragilidad ósea. Este trastorno multisistémico es autosómico dominante y tiene expresividad variable. Se ha rastreado la ubicación del gen del síndrome de hiper-IgE hasta el cromosoma 4. Los signos de esta anormalidad inmunitaria consisten en infecciones recurrentes y eosinofilia, además de concentraciones de IgE elevadas.

Deficiencias selectivas de clases de inmunoglobulinas

Diversos estados de inmunodeficiencia se caracterizan por cantidades muy disminuidas de isotipos de inmunoglobulinas específicas. De estos trastornos, la deficiencia de IgA es con mucho la más frecuente. Existen datos de una relación familiar: en ocasiones la deficiencia de IgA se presenta en las mismas familias en las que ocurre CVI, lo que sugiere un nexo entre ambos padecimientos. El espectro de los síntomas clínicos de la deficiencia de IgA es amplio; muchos de los sujetos afectados son asintomáticos, en tanto que otros sufren una combinación de problemas graves. Son comunes las infecciones recurrentes de las vías respiratorias y genitourinarias resultantes de falta de IgA secretoria sobre las superficies mucosas. Además, pueden relacionarse con concentraciones bajas de IgA trastornos como malabsorción intestinal, enfermedades alérgicas y problemas autoinmunitarios. No están claras las razones de esta variabilidad en el perfil clínico de la deficiencia de IgA, pero podría relacionarse con la capacidad de algunos pacientes de sustituir la IgA por IgM como anticuerpo de las mucosas. El defecto de la deficiencia de IgA se relaciona con la incapacidad de las células B que producen este anticuerpo de experimentar la diferenciación normal hasta la etapa de células plasmáticas. Pueden ser deficientes también en estos sujetos las subclases de IgG, IgG2 e IgG4 (fig. 4-18), aunque en ellos las moléculas de IgA de superficie de las células B parecen expresarse normalmente. Se sospecha que la causa de este síndrome bastante común son uno o más genes que no pertenecen al complejo génico de las inmunoglobulinas.

Se han notificado otras deficiencias de inmunoglobulinas, pero son raras. Se ha identificado como rasgo autosómico recesivo una deficiencia de IgM. Quienes padecen este trastorno son víctimas de infecciones graves por agentes como el meningococo, que provoca enfermedad letal. La deficiencia de IgM se puede acompañar de diversas alteraciones malignas o enfermedades autoinmunitarias. También son raras las deficiencias de IgG. Éstas no se perciben sino hasta la edad adulta y se pueden tratar con eficacia mediante administración de la inmunoglobulina.

Ataxia-telangiectasia

Aunque no clasificado de forma primaria como inmunodeficiencia, el trastorno llamado ataxia-telangiectasia es un síndrome en el que hay deficiencia de IgA y, en ocasiones, IgE. Se caracteriza por dificultad para conservar el equilibrio (ataxia) y rotura de capilares rotos (telangiectasia) en los ojos. Al parecer, el defecto primario se encuentra en una cinasa que participa en la regulación del ciclo celular. Todavía no se dilucidan las relaciones entre la deficiencia inmunitaria y los otros defectos del síndrome de ataxia-telangiectasia.

Trastornos inmunitarios que afectan el timo

Son diversos los síndromes de inmunodeficiencia que tienen su base en la incapacidad del timo de experimentar el desarrollo normal. La disfunción tímica tiene un efecto profundo sobre la función de las células T; están afectadas todas las poblaciones de éstas, entre ellas las variedades colaboradora, citolítica y reguladora. Está trastornada en particular la inmunidad a virus y hongos en quienes sufren estas anomalías.

En su forma más grave, el síndrome de DiGeorge o aplasia tímica congénita consiste en la ausencia total de timo. Este defecto del desarrollo, que se relaciona con la deleción de una parte del cromosoma 22 durante la fase embrionaria, produce inmunodeficiencia con anormalidades faciales características, hipoparatiroidismo y cardiopatía congénita (fig. 20-5). Se ha identificado la etapa en la que ocurre el defecto del desarrollo causante, y el trastorno se denomina en ocasiones *síndrome del tercero y cuarto sacos faríngeos* para denotar su origen embrionario preciso. El defecto de la inmunidad consiste en depresión profunda del número de células T y falta de respuesta de estas células. Aunque es normal el número de células B, los sujetos afectados no producen anticuerpos como reacción a las inmunizaciones con antígenos específicos. El trasplante de timo tiene cierta utilidad para corregir los defectos de la célula T, pero muchos pacientes con síndrome de DiGeorge tienen una cardiopatía tan grave que son muy escasas sus oportunidades de sobrevivir a largo plazo, incluso si se corrigen los defectos de la inmunidad.

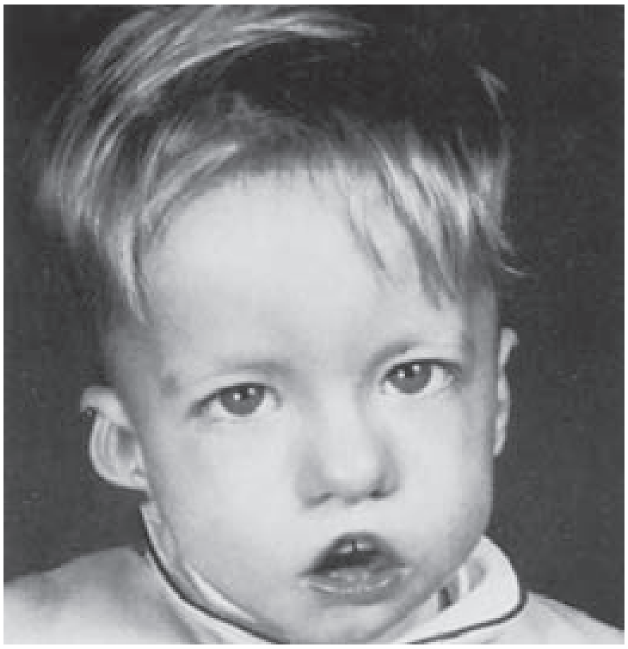


FIGURA 20-5 Niño con síndrome de DiGeorge que manifiesta la displasia característica de orejas y boca y la distancia anormalmente grande entre los ojos. *[R. Kretschmer et al., 1968,* New England Journal of Medicine ***279:****1295; fotografía cortesía de F. S. Rosen.]*

Mientras que el síndrome de DiGeorge es consecuencia de una anomalía intrauterina o del desarrollo, la hipoplasia tímica o síndrome de Nezelof es un trastorno hereditario. No se conoce el modo de herencia de esta rara enfermedad y su presentación es variable, lo que la torna un tanto difícil de diagnosticar. Como su nombre lo indica, la hipoplasia tímica es una anormalidad en la que hay un timo vestigial incapaz de participar en el desarrollo de las células T. En algunos individuos las células B son normales, mientras que en otros hay deficiencia de éstas secundaria al defecto de las células T. Los sujetos afectados sufren diarrea crónica, infecciones víricas o micóticas y desmedro general.

Las inmunodeficiencias del linaje mieloide afectan la inmunidad innata

Las inmunodeficiencias del linaje linfoide afectan la inmunidad adaptativa. En contraste, las del linaje de células mieloides lo hacen con las funciones inmunitarias innatas (fig. 20-1). La mayor parte de estos defectos tiene como resultado trastorno de los procesos fagocíticos que se manifiesta por infección microbiana recurrente de mayor o menor gravedad. Son varias las etapas en que los procesos fagocíticos son deficientes, como las de motilidad celular, adhesión a microorganismos y fagocitosis de éstos, y destrucción de patógenos por macrófagos.

Reducción del recuento de neutrófilos

Como se describió en el capítulo 2, los neutrófilos son granulocitos circulantes con función fagocítica. Las deficiencias cuantitativas en los recuentos de neutrófilos van desde ausencia casi completa de células, que se denomina agranulocitosis, hasta descenso de la concentración de estos leucocitos en la sangre periférica por debajo de 1 500/mm^3, la llamada granulocitopenia o neutropenia. Estas deficiencias cuantitativas pueden ser resultado de defectos congénitos o adquirirse por la acción de factores extrínsecos. Las neutropenias adquiridas son mucho más frecuentes que las congénitas.

La neutropenia congénita se debe a menudo a un defecto genético que afecta a la célula madre o progenitora mieloide; el resultado es una menor producción de neutrófilos durante la hematopoyesis. En la agranulocitosis congénita las células madre mieloides se encuentran en la médula ósea, pero rara vez se diferencian más allá de la etapa de promielocito. Como consecuencia, los niños nacidos con este trastorno experimentan neutropenia grave, con recuentos de menos de 200 de estas células por milímetro cúbico. Estos sujetos sufren infecciones bacterianas frecuentes que pueden aparecer en el primer mes de la vida; los lactantes normales están protegidos en esta etapa por anticuerpos maternos al igual que por mecanismos inmunitarios innatos, entre ellos los neutrófilos. Pruebas experimentales sugieren que este defecto genético tiene como efecto la producción disminuida del factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF) y, por este motivo, falla de la célula madre mieloide para diferenciarse a lo largo del linaje granulocítico (fig. 2-1).

Los neutrófilos tienen vida corta, y sus precursores deben multiplicarse con rapidez en la médula ósea para conservar las concentraciones de estas células en la sangre circulante. Por esta razón, es probable que produzcan neutropenia agentes como radiaciones y ciertos fármacos (p. ej., agentes quimioterápicos) que lesionan de manera específica células que se dividen con rapidez. Algunas veces se desarrolla neutropenia en enfermedades autoinmunitarias, como síndrome de Sjögren y lupus eritematoso sistémico; en estos trastornos hay autoanticuerpos que destruyen a los neutrófilos. A menudo se desarrolla neutropenia transitoria después de ciertas infecciones bacterianas o víricas, pero las cifras de neutrófilos se normalizan conforme se elimina la infección.

Enfermedad granulomatosa crónica (CGD)

Ésta es una anormalidad genética que tiene por lo menos dos formas definidas, una ligada al sexo que ocurre en alrededor de 70% de los pacientes y otra autosómica recesiva que ocurre en los casos restantes. Esta enfermedad se origina en un defecto de la vía oxidativa por medio de la cual los fagocitos liberan peróxido de hidrógeno y los productos reactivos resultantes, como el ácido hipocloroso, matan a las bacterias fagocitadas. Quienes padecen CGD sufren reacciones inflamatorias excesivas, como gingivitis, tumefacción de ganglios linfáticos y granulomas no malignos (acumulaciones celulares subcutáneas abultadas); son también susceptibles a las infecciones bacterianas y micóticas. Estos pacientes no son especialmente propensos a infecciones por bacterias que, como el neumococo, generan su propio peróxido de hidrógeno. En este caso, la mieloperoxidasa de la célula hospedadora puede emplear el peróxido de hidrógeno bacteriano para liberar ácido hipocloroso suficiente para anular la infección. Diversos efectos relacionados producen granulomatosis crónica; entre ellos están un citocromo faltante o defectuoso (cyt b_{558}) que funciona en una vía oxidativa y defectos de una proteína (oxidasa fagosómica, o phox) que estabiliza el citocromo. Además del defecto general de la función asesina de los fagocitos, se observa también disminución de la capacidad de las células mononucleares de funcionar como células presentadoras de antígeno (APC). Están trastornados el procesamiento y la presentación de antígenos. Se requieren mayores cantidades de antígeno para recabar la ayuda de la célula T cuando se emplean como APC las células mononucleares de los pacientes que sufren enfermedad granulomatosa crónica.

Se ha demostrado in vitro que la adición de IFN-γ restablece la función de los granulocitos y los monocitos en esta enfermedad. Esta observación llevó a realizar estudios clínicos con el IFN-γ para los sujetos con enfermedad granulomatosa crónica. Se han informado en estos casos incrementos alentadores de la función oxidativa y restablecimiento del citocromo citoplásmico. Además, el conocimiento de los defectos génicos precisos subyacentes a esta anomalía la hacen candidata para la terapia génica, y la restitución del citocromo defectuoso ha tenido resultados promisorios (véase más adelante).

Síndrome de Chédiak-Higashi

Esta enfermedad autosómica recesiva se caracteriza por infecciones bacterianas recurrentes, albinismo oculocutáneo parcial (falta de pigmento en la piel y el ojo) e infiltración agresiva, pero no maligna, de los órganos por células linfoides. Los fagocitos de los pacientes que experimentan este defecto de la inmunidad contienen gránulos gigantes, aunque carecen de la capacidad de matar bacterias. La base molecular del defecto es una mutación en una proteína (LYST) que participa en la regulación del intercambio intracelular. Esta mutación trastorna el traslado de proteínas hacia los lisosomas secretorios, lo que los torna incapaces de lisar bacterias.

Deficiencia de adhesión leucocítica (LAD)

Como se describió en el capítulo 13, las moléculas de la superficie celular que pertenecen a la familia de las proteínas llamadas integrinas funcionan como moléculas de adhesión y son indispensables para facilitar la interacción celular. Tres de ellas, LFA-1, Mac-1 y gp150/95 (CD11a, b y c, respectivamente) tienen una cadena β en común (CD18) y se encuentran en cantidades variables en diversas células monocíticas; la proteína CD11a se expresa además en las células B (cuadro 20-2). Una inmunodeficiencia se vincula con disfunción de las moléculas de adhesión secundaria a un defecto localizado en la cadena β común que afecta la expresión de las tres moléculas que emplean esta cadena. Este defecto, denominado deficiencia de adhesión leucocítica (LAD), produce susceptibilidad a las infecciones por bacterias grampositivas y gramnegativas y por diversos hongos. El trastorno de la adhesión de los leucocitos al endotelio vascular limita el reclutamiento de células en los sitios en que ocurre inflamación. Se altera en cierto grado la inmunidad contra los virus, como cabría esperar a causa de la colaboración defectuosa entre las células T y B originada por el fallo de la adhesión. La gravedad de éste es variable; algunos individuos mueren en unos cuantos años y otros sobreviven hasta el quinto decenio de

CUADRO 20-2 Propiedades de moléculas de integrina ausentes en la deficiencia de adhesión leucocítica

	MOLÉCULAS DE INTEGRINA*		
Propiedad	**LFA-1**	**CR3**	**CR4**
Designación CD	CD11a/CD18	CD11b/CD18	CD11c/CD18
Composición de la subunidad	αLβ2	αMβ2	αXβ2
Masa molecular de la subunidad (kDa)			
Cadena α	175 000	165 000	150 000
Cadena β	95 000	95 000	95 000
Expresión celular	Linfocitos Monocitos Macrófagos Granulocitos Células asesinas naturales	Monocitos Macrófagos Granulocitos Células asesinas naturales	Monocitos Macrófagos Granulocitos
Ligando	ICAM-1 (CD 54) ICAM-2 (CD 102)	C3bi	C3bi
Funciones inhibidas con anticuerpo monoclonal	Extravasación Muerte por CTL Formación de conjugados T-B ADCC	Opsonización Adhesión, agregación y quimiotaxis de granulocitos ADCC	Adhesión y agregación de granulocitos

*CR3, receptor de complemento tipo 3, conocido también como Mac-1; CR4, receptor de complemento tipo 4, conocido también como gp150/95; LFA-1, CR3 y CR4 son heterodímeros que contienen una cadena β común pero diferentes cadenas α designadas L, M y X, respectivamente.

la vida. No se ha identificado el origen del fenotipo variable de la enfermedad. La deficiencia de adhesión leucocítica se describe en el enfoque clínico del capítulo 13.

Los defectos del complemento causan inmunodeficiencia o enfermedad por inmunocomplejos

En el capítulo 7 se analizan las afecciones de inmunodeficiencia resultantes de defectos del sistema del complemento. Muchas deficiencias del complemento se acompañan de mayor susceptibilidad a infecciones bacterianas, trastornos por inmunocomplejos, o ambas cosas. Uno de estos padecimientos del complemento, una deficiencia de properdina, proteína que estabiliza a la convertasa de C3 en la vía alterna del complemento, se debe a un defecto de un gen que se encuentra en el cromosoma X (fig. 20-2). Los defectos en la lectina de unión a manosa (MBL) causan una mayor susceptibilidad a diversas infecciones bacterianas o micóticas. Recuérdese del capítulo 7 que la MBL es un iniciador clave del ataque del complemento contra muchos patógenos y es un componente importante de la inmunorreacción innata a muchos organismos.

Los trastornos de inmunodeficiencia se tratan mediante restitución del elemento defectuoso

Aunque no hay cura para los trastornos de inmunodeficiencia, sí existen varias posibilidades terapéuticas. Además de la opción drástica del aislamiento total contra la exposición a cualquier agente microbiano, las alternativas terapéuticas para las inmunodeficiencias son las siguientes:

- Reemplazo de una proteína faltante
- Reemplazo de un tipo o linaje celulares faltantes
- Reemplazo de un gen faltante o defectuoso

Para los trastornos que afectan la producción de anticuerpos, el criterio terapéutico habitual es la administración de la inmunoglobulina (proteína) faltante. La globulina humana mezclada suministrada por vía intravenosa o subcutánea protege al individuo contra la infección recurrente en muchos tipos de inmunodeficiencia. El mantenimiento de concentraciones razonablemente elevadas de inmunoglobulina sérica (5 mg/ml de suero) previene las infecciones más frecuentes en el paciente agammaglobulinémico. Esto se logra en especial con la administración de inmunoglobulina que se ha seleccionado de anticuerpos dirigidos contra un microorganismo en particular. Los progresos recientes en la elaboración de anticuerpos monoclonales humanos, y en la capacidad de producir mediante técnicas de ingeniería genética anticuerpos quiméricos con regiones V murinas y regiones C humanas, han hecho posible obtener anticuerpos específicos para agentes patógenos de importancia (cap. 5).

Los progresos en la biología molecular han permitido clonar los genes que codifican otras proteínas relevantes desde el punto de vista inmunológico, como citocinas, y expresar sus genes in vitro mediante sistemas bacterianos o eucarióticos de expresión. La disponibilidad de estas proteínas permite aplicar nuevos modos de tratamiento en los que pueden restituirse proteínas inmunitarias esenciales o incrementarse sus concentraciones. Por ejemplo, la administración de IFN-γ recombinante ha sido eficaz en los sujetos con enfermedad granulomatosa crónica (CGD), y el empleo de IL-2 recombinante puede ayudar a restaurar la función inmunitaria en los individuos con SIDA. Se ha administrado con buenos resultados adenosindesaminasa recombinante a personas que experimentan inmunodeficiencia combinada grave con deficiencia de dicha enzima.

La restitución celular como terapia para las inmunodeficiencias es ahora posible gracias a los progresos recientes en el trasplante de médula ósea (cap. 17). La restitución con células madre o progenitoras de un donador inmunosuficiente permite el desarrollo de un sistema inmunitario funcional (véase el enfoque clínico del cap. 2). Se han informado tasas elevadas de éxito en quienes son lo suficientemente afortunados para contar con un donador HLA idéntico. Las pruebas cuidadosas de compatibilidad entre pacientes y donadores, y la capacidad de manipular poblaciones de células madre para seleccionar células precursoras $CD34^+$, minimizan aún más el riesgo de este procedimiento, incluso en los casos en que no se cuenta con un donador ideal. Estos procedimientos han arrojado excelentes resultados en los lactantes que sufren inmunodeficiencia combinada grave cuando se emplea médula de donador haplotípico idéntico (compatibilidad total de un grupo de genes o un haplotipo HLA). Se agotan las células T y se enriquecen las células madre $CD34^+$ antes de injertar la médula ósea de donador en el lactante con inmunodeficiencia combinada grave. Puesto que esta terapéutica se introdujo hace poco, no se sabe si el trasplante resuelve de manera permanente la inmunodeficiencia. Una variante del trasplante de médula ósea consiste en la inyección de células $CD34^+$ paternas por la vía intrauterina cuando se espera el nacimiento de un lactante que sufre esta inmunodeficiencia combinada grave.

Si se identifica un defecto génico aislado, como sucede en la deficiencia de adenosindesaminasa o la enfermedad granulomatosa crónica, el reemplazo del gen deficiente puede ser una opción terapéutica. Se encuentran en marcha pruebas clínicas con tal tipo de reemplazo para la inmunodeficiencia combinada grave (SCID) causada por deficiencia de ADA y la enfermedad granulomatosa crónica con $p67^{phox}$ defectuoso; al menos los resultados iniciales son promisorios. Se observó remisión de 18 meses de duración en los pacientes con SCID y de seis en los que sufrían CGD. En ambos estudios se empleó un procedimiento similar. Se obtienen primero células del paciente (casi siempre se seleccionan células madre $CD34^+$ para estos procedimientos), que se someten a transfección con una copia normal del gen defectuoso. A continuación se devuelven al enfermo las células transfectadas. A medida que mejore esta terapéutica, podrá aplicarse a diversas inmunodeficiencias en las que el defecto génico está definido con claridad. Como se mencionó con anterioridad, se incluyen en estos casos defectos de los genes que codifican a la cadena γ de los receptores IL-2, JAK-3 y ZAP-70, todos ellos causantes de SCID. Como en todos los tratamientos, existe un elemento de riesgo en el uso de la terapia génica para la inmunodeficiencia. Dos incidentes en los cuales las poblaciones celulares introducidas proliferaron de manera descontrolada, causando leucemia en pacientes tratados contra SCID, indican tener cautela con el uso de la terapia génica. Sin embargo, el riesgo potencial que ésta conlleva debe ponderarse contra el beneficio para pacientes que sucumbirán a infecciones letales si no se les trata.

Los modelos experimentales de inmunodeficiencia incluyen animales alterados por medios genéticos

Los inmunólogos emplean dos modelos animales bien estudiados de inmunodeficiencia primaria con diversas finalidades experimentales. Uno de ellos es el ratón desnudo (atímico o lampiño); el otro es el ratón con inmunodeficiencia combinada grave o SCID. Estudios recientes con ratones modificados genéticamente en los cuales se desactiva un solo gen dan información precisa acerca del papel de genes específicos en el combate de la infección.

Ratón desnudo

Se descubrió en ciertos ratones un rasgo genético denominado *nu*, controlado por un gen recesivo situado en el cromosoma 11. Los ratones homocigotos para este rasgo (*nu/nu*) carecen de pelo y tienen timo vestigial (fig. 20-6). Los compañeros de camada heterocigotos *nu*/+ tienen pelo y timo normal. No se sabe si la falta de pelaje y el defecto del timo se deben al mismo gen. Es posible que controlen estos defectos dos genes enlazados de manera muy estrecha que, si bien no relacionados, aparecen juntos en estos ratones mutantes. Puede participar un gen que controla el desarrollo, puesto que la vía que conduce al desarrollo diferencial del timo se vincula con la que controla las células epiteliales de la piel. El ratón *nu/nu* no sobrevive con facilidad; en condiciones normales su mortalidad es de 100% en un plazo de 25 semanas y la mitad de estos animales muere en las dos semanas siguientes a su nacimiento. Por este motivo, cuando se emplean estos animales con finalidades experimentales, deben conservarse bajo condiciones que los protejan contra los procesos infecciosos. Entre las precauciones necesarias figuran alimentos, agua, jaulas y lechos esterilizados. Las jaulas se protegen del polvo y se les coloca dentro de sistemas de flujo laminar o con filtros de aire adaptados a cada jaula individual.

Los ratones desnudos carecen de reacciones inmunitarias mediadas por células y son incapaces de producir anticuerpos contra la mayor parte de los antígenos. La inmunodeficiencia de estos animales puede corregirse mediante trasplante de timo.

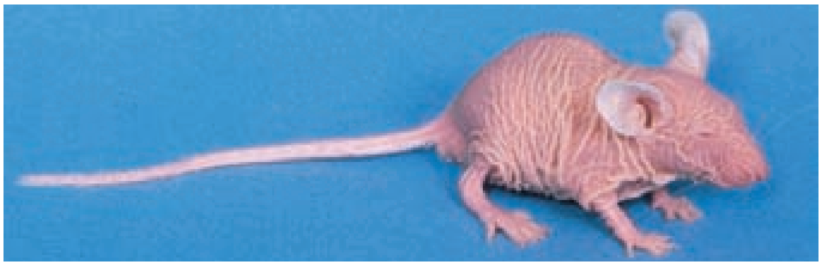


FIGURA 20-6 Ratón desnudo (*nu/nu*). Este defecto produce ausencia del timo o timo vestigial e inmunodeficiencia mediada por células. *[Cortesía de Jackson Laboratory, Bar Harbor, Maine.]*

Como pueden tolerar de forma permanente los aloinjertos y xenoinjertos, tienen cierto número de aplicaciones experimentales prácticas. Por ejemplo, pueden implantarse en ellos hibridomas o tumores sólidos de cualquier origen en forma de ascitis o tumores inoculados. Se sabe que el ratón lampiño no carece por completo de células T; más bien cuenta con una población limitada que aumenta con el paso de la edad. No se conoce el origen de estas células T; una posibilidad intrigante es la de una fuente extratímica de células T maduras. Sin embargo, lo más probable es que provengan del timo vestigial. La mayor parte de las células T circulantes en la sangre del ratón desnudo contienen receptores del tipo γδ en vez de los del tipo αβ preponderantes en la circulación del ratón normal.

Ratón SCID

En 1983, Melvin y Gayle Bosma y sus colaboradores describieron una mutación autosómica recesiva del ratón que originaba una deficiencia grave de linfocitos maduros. Denominaron a este rasgo inmunodeficiencia combinada grave (SCID) por su semejanza con la forma observada en seres humanos. Se demostró que el ratón con SCID (o ratón SCID) poseía células tempranas de los linajes B y T, pero carecía virtualmente de células linfoides en timo, bazo, ganglios linfáticos e intestino, que son los sitios en que suelen identificarse estas células B y T funcionales. Las células precursoras de esta clase en el ratón SCID parecen incapaces de diferenciarse en células B y T maduras. Se han obtenido y estudiado con detalle líneas de ratones endogámicos que llevan el defecto SCID. El ratón con esta deficiencia no puede producir anticuerpos ni montar reacciones de hipersensibilidad tardía (HSR) o rechazo de injerto. Si los animales no se mantienen en un ambiente extremadamente limpio, sucumben a las infecciones al principio de la vida. En el ratón SCID se desarrollan células diferentes a los linfocitos normales; los eritrocitos, monocitos y granulocitos son funcionales. El ratón con este trastorno puede hacerse inmunocompetente por medio del trasplante de células madre de ratones normales.

La mutación en una cinasa de proteína de DNA que causa la SCID murina es una mutación llamada “con fugas”, ya que cierto número de ratones con esta enfermedad produce inmunoglobulinas. Cerca de la mitad de estos animales con fugas son capaces también de rechazar los aloinjertos de piel. Ello sugiere que la enzima defectuosa puede funcionar de manera parcial en el desarrollo de las células T y B y permitir la diferenciación normal de un pequeño porcentaje de las células precursoras. En fecha más reciente se desarrollaron ratones con inmunodeficiencia del tipo de la SCID mediante supresión de las enzimas activadoras de la recombinación (RAG-1 y RAG-2) encargadas del reordenamiento de los genes de inmunoglobulina o del receptor de célula T en los precursores B y T. Los ratones con desactivación de RAG exhiben defectos en estos dos tipos de células; ninguno de éstos puede reordenar los genes para su receptor y por tanto ninguno prosigue por la vía normal del desarrollo. Como las células con reordenamientos anormales se eliminan in vivo, no se encuentran células B ni T en los órganos linfoides de los ratones con desactivación de RAG. Además de ofrecer un panorama sobre las posibles causas de la inmunodeficiencia combinada de células T y B, el ratón con SCID ha sido de utilidad extrema para los estudios de la inmunología celular. Como no operan sus mecanismos de rechazo, este ratón puede emplearse en estudios con células u órganos de diversos orígenes. Por ejemplo, es posible utilizar células inmunitarias precursoras de origen humano para restablecer el sistema inmunitario del ratón con SCID. Estas células humanas pueden desarrollarse de manera normal y, como resultado, la circulación del ratón de esta clase contiene inmunoglobulina de origen humano. En una aplicación importante se infectan estos ratones con VIH-1. Aunque los ratones normales no son susceptibles a la infección por este virus, el animal que experimenta SCID reconstituido con tejido linfoide humano (ratón SCID-Hu) se convierte en un modelo animal en el que pueden estudiarse las medidas terapéuticas o profilácticas contra la infección por VIH del tejido linfoide humano trasplantado.

SIDA y otras inmunodeficiencias adquiridas o secundarias

Como se describió con anterioridad, ocasionan inmunodeficiencia diversos defectos del sistema inmunitario. Además de las inmunodeficiencias primarias, existen también las adquiridas o secundarias. Una que se conoce desde hace cierto tiempo es la llamada hipogammaglobulinemia adquirida. (Como se mencionó antes, este trastorno se confunde algunas veces con la inmunodeficiencia variable común, alteración que manifiesta predisposición genética.) No se ha identificado el origen de la hipogammaglobulinemia adquirida y su síntoma principal, la infección recurrente, se expresa de manera espontánea en adultos jóvenes. Por lo regular, los sujetos tienen concentraciones muy bajas, pero perceptibles, de inmunoglobulina total. Pueden ser también normales el número y la función de sus células T, si bien existen algunos casos con defectos de estas células que pueden agravarse conforme avanza la afección. Ésta suele tratarse mediante administración de inmunoglobulina, que permite a los individuos sobrevivir hasta el séptimo u octavo decenio de la vida. A diferencia de lo que ocurre en las deficiencias similares ya señaladas, no hay pruebas de transmisión genética de esta enfermedad. Las madres que sufren hipogammaglobulinemia adquirida dan a luz a lactantes normales. Sin embargo, al nacer estos individuos sufren deficiencia de inmunoglobulina circulante, ya que se refleja en ellos la deficiencia de ésta en la circulación sanguínea materna.

Otra forma de inmunodeficiencia secundaria, conocida como inmunodeficiencia inducida por agentes, es resultado de exposición a uno de diversos agentes químicos y biológicos. Algunos son fármacos suministrados para combatir enfermedades autoinmunitarias como artritis reumatoide y lupus eritematoso. Los corticosteroides, de uso frecuente en trastornos autoinmunitarios, interfieren en la inmunorreacción y de este modo alivian los síntomas. De manera semejante, se induce de modo deliberado un estado de inmunodeficiencia en los sujetos sometidos a trasplante mediante fármacos inmunosupresores, como la ciclosporina A, con la finalidad de embotar el ataque del sistema inmunitario contra los órganos trasplantados. Como se describe en el capítulo 17, se han efectuado esfuerzos recientes para usar medios más específicos a fin de inducir tolerancia a los aloinjertos y evitar los efectos adversos de la inmunosupresión general. El mecanismo de acción de los agentes inmunosupresores es variable, aunque son blancos frecuentes de éstos las células T. Además, los fármacos citotóxicos y la radioterapia prescritos para tratar diversas formas de cáncer a menudo lesionan las células en división, entre ellas las del sistema inmunitario, e inducen un estado de inmunodeficiencia como consecuencia indeseable. Los individuos que se someten a este tratamiento deben ser vigilados de cerca y tratarse con antibióticos o inmunoglobulina específica en caso de infección.

La epidemia de VIH/SIDA ha cobrado millones de vidas a nivel mundial

En los últimos años, todas las otras formas de inmunodeficiencia han quedado opacadas por una forma epidémica de inmunodeficiencia grave causada por el agente patógeno llamado virus 1 de la inmunodeficiencia humana, o VIH-1. La enfermedad que este virus produce, el síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA), se informó en Estados Unidos por primera vez en 1981 en las ciudades de Los Ángeles, Nueva York y San Francisco. Un grupo de pacientes presentaron infecciones poco comunes, entre ellas la causada por el hongo patógeno oportunista *Pneumocystis carinii*, que produce una neumonía que se conoce como PCP (del inglés *P. carinii pneumonia*) en personas inmunodeficientes. Además de la PCP, algunos sujetos padecen sarcoma de Kaposi, un tumor de la piel extraordinariamente raro, al igual que otras infecciones por microorganismos oportunistas observadas también rara vez. La valoración más completa de estos individuos puso de manifiesto que tenían en común una deficiencia notable de las reacciones inmunitarias celulares y un decremento sustancial de la subpoblación de células T portadoras del marcador CD4 (células T colaboradoras). Cuando los epidemiólogos examinaron los antecedentes de los primeros pacientes que sufrían este nuevo síndrome, encontraron que, en su mayoría, eran varones homosexuales. A medida que aumentaba el número de casos de SIDA y se reconocía la enfermedad en todo el mundo, las personas que se encontraban en alto riesgo de contraerla eran varones homosexuales, individuos heterosexuales promiscuos de cualquier sexo y sus parejas, usuarios de drogas por vía intravenosa, personas que habían recibido sangre o sus productos antes de 1985 y lactantes nacidos de madres infectadas por el VIH.

Desde su descubrimiento en 1981, el SIDA ha alcanzado proporciones epidémicas por todo el planeta. Hasta diciembre de 2004, el número acumulado total de defunciones por SIDA informadas en Estados Unidos era de 524 000, y en 2005 alrededor de un millón vivían con infección por VIH en ese país. Aunque ahí es obligatoria la notificación de los casos de SIDA, muchos estados no exigen el informe de los casos de infección por VIH que no han avanzado aún al SIDA. Por este motivo, la cifra de personas infectadas por el virus es estimada. Aunque la mortalidad por SIDA ha disminuido en los últimos años en virtud de las mejoras en el tratamiento, el SIDA se mantiene entre las principales causas de muerte en sujetos de 25 a 44 años de edad en Estados Unidos (fig. 20-7). El hecho de que el número anual de muertes por SIDA se haya estabilizado es alentador, pero no indica el final de la epidemia en ese país. Una tendencia perturbadora es que la epidemia se concentra rápidamente en mujeres y en afroestadounidenses, quienes representan la mitad de las muertes recientes por SIDA.

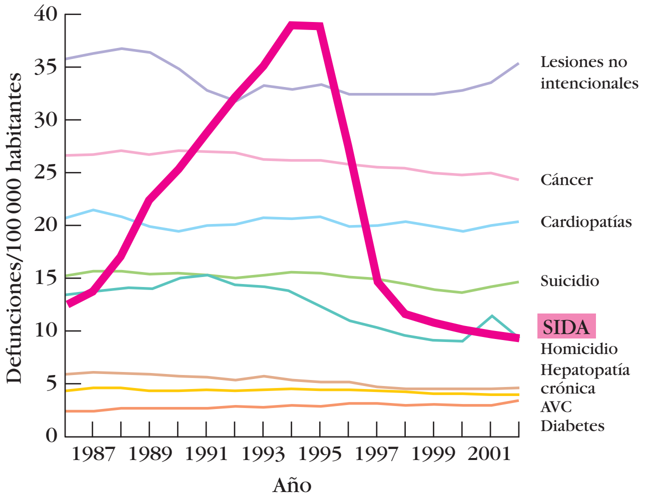


FIGURA 20-7 Tasas de defunción por las causas principales en personas de 25 a 44 años de edad en Estados Unidos correspondientes a los años de 1987 a 2002. La línea roja indica que la tasa de defunción por 100 000 personas a causa del SIDA sobrepasó cualquier otra causa individual de muerte dentro de este intervalo de edad durante el período de 1993 a 1995. La disminución reciente de las defunciones por SIDA en Estados Unidos se atribuye a los progresos del tratamiento farmacológico contra el VIH, que prolonga la vida de los sujetos infectados. AVC, accidente vascular cerebral. *[Datos del sitio web de los Centers for Disease Control, www.cdc.gov/.]*

La magnitud de la epidemia de SIDA en Estados Unidos es insignificante comparada con las cifras informadas en otras partes del mundo. En la figura 20-8 se ilustra la distribución global de los individuos afligidos por esta enfermedad. Se estima que en África subsahariana vivían 25.8 millones de personas con SIDA a finales de 2005, y que había otros 7.4 millones en el sur y sudeste de Asia. En todo el mundo hay unos 40.3 millones de personas con SIDA, entre ellas más de 2.3 millones de niños menores de 15 años de edad. Además, millones de niños han quedado huérfanos al morir sus padres a causa de este padecimiento. Estimaciones recientes de la Organización Mundial de la Salud indican que ocurrieron 4.9 millones de nuevas infecciones por VIH en 2005, esto es, un promedio de casi 13 500 personas se infectaron cada día durante ese año. Este número incluye un monto de infecciones diarias de 1 400 niños menores de 15 años.

El grupo inicial de pacientes con SIDA en Estados Unidos y Europa occidental lo conformaban sobre todo varones de raza blanca. Aunque éste sigue siendo el grupo más afectado en esas regiones, en fechas más recientes la distribución en Estados Unidos cambió para incluir una proporción más grande de mujeres y una proporción creciente de minorías. A nivel mundial, el número de pacientes con SIDA se distribuye con más uniformidad entre varones y mujeres, y en África subsahariana, región con la incidencia más elevada de SIDA, más de la mitad (alrededor de 57%) de las personas afectadas son mujeres.

El VIH-1 se propaga por contacto sexual, sangre infectada y de madre a hijo

Aunque aún no se ha dilucidado el mecanismo preciso por el cual el VIH-1 infecta a un individuo, los datos epidemiológicos disponibles indican que los medios frecuentes de transmisión

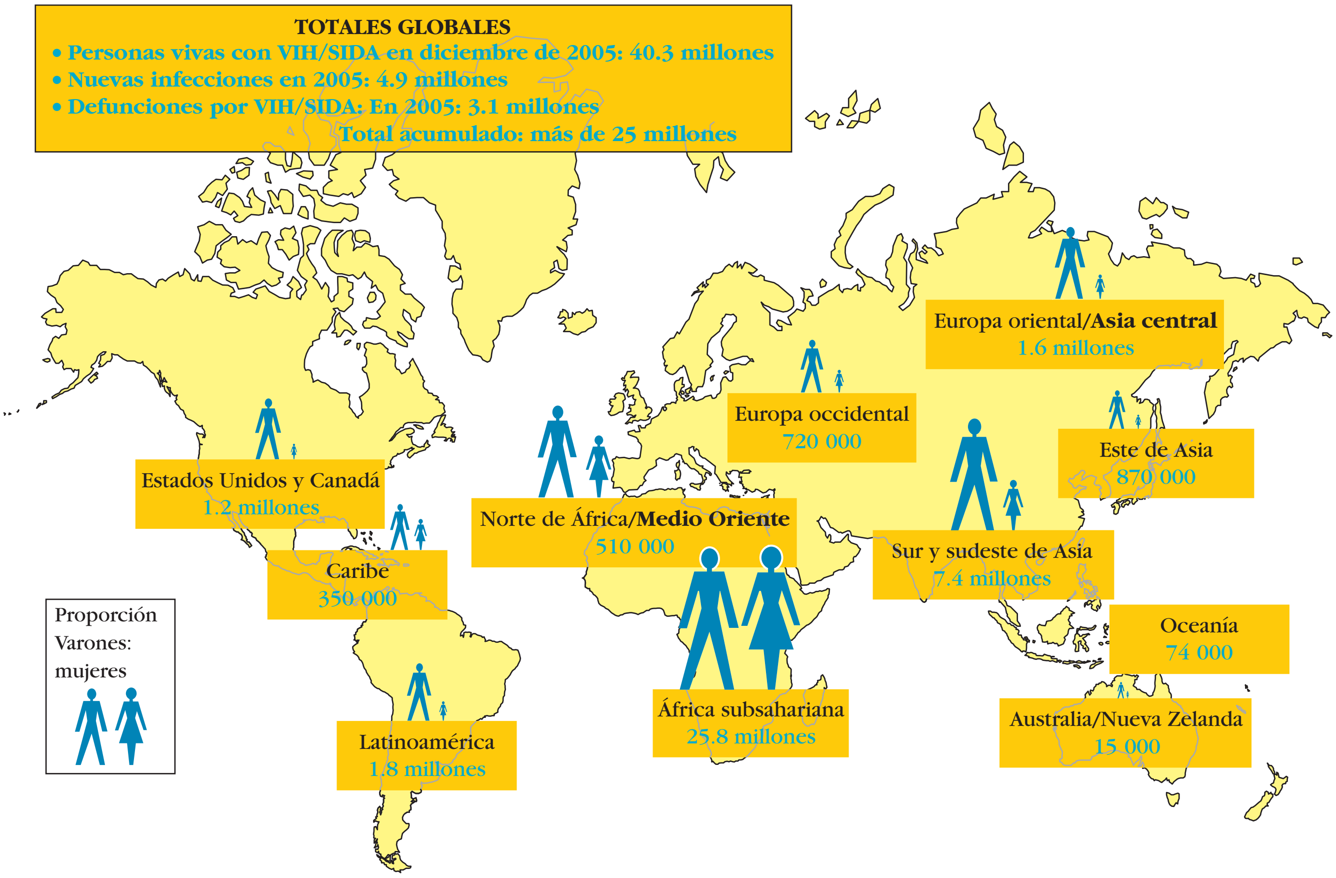

TOTALES GLOBALES
• Personas vivas con VIH/SIDA en diciembre de 2005: 40.3 millones
• Nuevas infecciones en 2005: 4.9 millones
• Defunciones por VIH/SIDA: En 2005: 3.1 millones
Total acumulado: más de 25 millones
Europa oriental/Asia central
1.6 millones
Europa occidental
720 000
Este de Asia
870 000
Estados Unidos y Canadá
1.2 millones
Norte de África/Medio Oriente
510 000
Sur y sudeste de Asia
7.4 millones
Caribe
350 000
Oceanía
74 000
Proporción
Varones:
mujeres
África subsahariana
25.8 millones
Australia/Nueva Zelanda
15 000
Latinoamérica
1.8 millones

FIGURA 20-8 **Epidemia global de SIDA.** Distribución mundial estimada de casos de SIDA hasta diciembre de 2005. En esa fecha había alrededor de 40.3 millones de personas vivas con SIDA; la mayoría se encontraba en África subsahariana y el sudeste de Asia. En América del Norte y Europa occidental cerca de 75% de las personas afectadas eran varones, en tanto que en África subsahariana alrededor de 57% de quienes padecen SIDA son mujeres. *[Datos de UNAIDS/WHO: AIDS Epidemic Update, December 2005, http://www.unaids.org/epi/2005/doc/EPIupdate2005_pdf_en/epi-update2005_en.pdf.]*

son coito homosexual y heterosexual, recepción de sangre o productos sanguíneos infectados y paso directo desde la madre hacia su lactante. Antes de que se emplearan pruebas para identificar el VIH en las reservas de sangre, los pacientes que recibían transfusiones de ésta y los hemofílicos tratados con productos sanguíneos estaban en peligro de contraer la infección por VIH-1. La exposición a sangre infectada explica la gran incidencia de SIDA entre los usuarios de drogas por vía intravenosa, que a menudo comparten las agujas hipodérmicas. Los lactantes nacidos de madres infectadas por este virus están en gran riesgo de adquirirlo. A menos que se trate a las madres infectadas con agentes antivíricos antes del parto, se infectan con el virus alrededor de 30% de los niños nacidos de ellas (véase el enfoque clínico). Sangre transferida durante el proceso del parto y leche durante la lactancia son posibles vehículos para el paso del virus desde la madre hacia su hijo. Es más probable que la transmisión desde un sujeto infectado hacia otro que no lo está ocurra por células infectadas por el VIH, en particular macrófagos, células dendríticas y linfocitos.

Se estima que, en la epidemia mundial, 75% de los casos de transmisión del VIH son atribuibles al contacto heterosexual. Aunque la probabilidad de transmisión por el coito vaginal es menor que la de otros medios, como la administración intravenosa de sustancias y el coito anal receptivo, las probabilidades de contraer la infección aumentan de manera notable con la presencia de otras enfermedades de transmisión sexual (STD, del inglés *sexually transmitted diseases*). En las poblaciones plagadas por la prostitución, las STD florecen y se convierten en un cofactor poderoso para la transmisión heterosexual del VIH-1. Entre los motivos para este incremento de la tasa de infección están las lesiones y úlceras abiertas que ocurren en muchas STD, que favorecen la transferencia de sangre infectada por este virus durante el coito. Los datos de estudios realizados en India y Uganda indican que la circuncisión masculina reduce en grado significativo el riesgo de que el varón contraiga VIH-1, así como el riesgo de transmisión desde el varón circuncidado infectado a su pareja. En estos estudios no se observó un efecto protector similar de la circuncisión para otras enfermedades de transmisión sexual, como herpes simple tipo 2, sífilis o gonorrea.

Para transmitir la infección por VIH-1 se requiere el contacto con sangre, leche, semen o exudado vaginal de un individuo infectado. Los investigadores y los profesionales médicos que adoptan medidas de precaución razonables tienen una incidencia muy baja de SIDA a pesar de su contacto repetido con materiales infectados. El riesgo de transmitir la infección por VIH puede minimizarse con simples medidas de precaución, entre

ENFOQUE CLÍNICO

Prevención de la infección infantil por VIH mediante tratamiento antirretrovírico

Se estima que casi 700 000 lactantes se infectaron con VIH por transmisión desde sus madres en 2005. En su mayor parte estas infecciones son resultado de transmisión del virus desde las madres infectadas durante el parto o al transferirlo por la leche durante el amamantamiento. La incidencia de infección adquirida desde la madre puede reducirse si se trata a la mujer infectada embarazada con un ciclo de zidovudina (AZT) durante varios meses antes del parto y su hijo durante seis semanas después de nacer. Este régimen terapéutico se instituye con amplitud en Estados Unidos. Sin embargo, en su mayor parte las infecciones por VIH de los lactantes a nivel mundial se produce en África subsahariana y otras regiones menos desarrolladas, en las que el costo y el tiempo requerido del régimen de zidovudina lo vuelven una solución impráctica para el problema de la transmisión maternoinfantil del VIH.

Un estudio clínico efectuado en 1999 con el agente antirretrovírico nevirapina ofrece esperanzas de encontrar una manera práctica de combatir la infección por VIH en los lactantes bajo condiciones de asistencia clínica menos que ideales. La investigación se llevó a cabo en el Mulago Hospital de Kampala, Uganda, e incluyó a 645 madres que resultaron positivas a la infección por VIH. Alrededor de la mitad de estas mujeres recibió una dosis única de nevirapina al principio del trabajo de parto y los lactantes recibieron también una dosis única 24 a 30 h después de nacer. La dosis y el momento se basaron en el criterio del egreso rápido del hospital. La rama testigo del estudio consistió en un ciclo más extenso de zidovudina, pero por las condiciones del campo no fue posible duplicar de manera precisa el ciclo completo que se administra a las madres infectadas en Estados Unidos. Los sujetos de este estudio fueron sometidos a seguimiento por un mínimo de 18 meses, incluidos 302 lactantes tratados con zidovudina y 308 con nevirapina. En este estudio, 99% de los lactantes era alimentado al seno por madres infectadas, de modo que la prueba mide un intervalo considerable durante el cual los lactantes estuvieron expuestos al riesgo de infección.

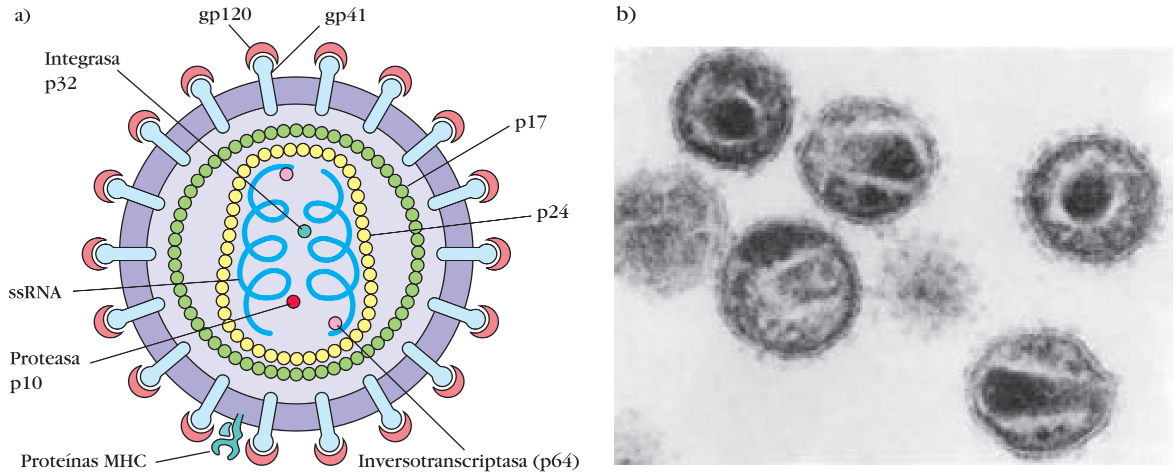
Los lactantes se sometieron a pruebas de detección de VIH-1 varias veces desde el nacimiento hasta los 18 meses de edad mediante PCR de RNA, y en ocasiones posteriores a través de la detección de anticuerpo contra VIH-1 (una vez que el anticuerpo materno dejaría de interferir en la prueba). La tasa global de infecciones para los lactantes de madres no tratadas se estimó en alrededor de 37%. Cuando se administra el ciclo completo de zidovudina, la tasa cae hasta 20%. Los resultados muy alentadores obtenidos en el estudio de Uganda revelaron infección en sólo 13.5% de los lactantes del grupo de nevirapina cuando se investigaron a las 16 semanas de edad. De los que recibieron un ciclo breve de zidovudina, 22.1% se encontraba infectado a esa edad en comparación con 40.2% de los de un pequeño grupo que recibió placebo. En el seguimiento a 18 meses del grupo de prueba, 15.7% de los que recibieron nevirapina se infectó, mientras que 25.8% de los tratados con nevirapina era positivo para VIH-1.

A partir de este estudio, parece ser que la dosis única de nevirapina es el medio más eficaz encontrado hasta ahora para prevenir la transmisión maternoinfantil de la infección por VIH y que incluso es mejor que el régimen más extenso y costoso usado en los países desarrollados. Estos resultados deben verificarse, con exploración de la posibilidad de efectos adversos inesperados. Sin embargo, representan esperanzas de reducir la infección de los lactantes en las partes del mundo en que el acceso a la asistencia médica es limitado.

Como se mencionó con anterioridad, el estudio se diseñó para ajustarlo a la realidad de la asistencia materna en Kampala; en este caso el sistema se adecuó a la perfección. El empleo de nevirapina tiene otras ventajas importantes, como estabilidad del fármaco a la temperatura ambiental y costo razonable. La dosis de nevirapina suministrada a la madre y el lactante es unas 200 veces más económica que el régimen de zidovudina prescrito en la actualidad en Estados Unidos. De hecho, el costo del tratamiento es lo suficientemente bajo para justificar su aplicación a todas las madres en el momento del parto en las regiones en que las tasas de infección son elevadas, toda vez que el tratamiento con nevirapina cuesta menos que los estudios realizados para identificar la infección por VIH. Desde luego, es necesario instituir esta conducta con grandes precauciones, en virtud del peligro de los efectos adversos a largo plazo y otros problemas inesperados.

Mural en el que se observa a una madre y su hijo en una pared exterior del Mulago Hospital Complex en Kampala, Uganda, sitio en el que se efectuó el estudio que demostró que la nevirapina reduce en gran medida la transmisión maternoinfantil del VIH-1. *(Cortesía de Thomas Quinn, Johns Hopkins University.)*

FIGURA 20-9 PARA VISUALIZACIÓN DE CONCEPTOS: Estructura del VIH



a) Corte transversal del virión del VIH. Cada virión expresa 72 proyecciones glucoproteínicas compuestas por gp120 y gp41. La gp41 es una molécula transmembranal que cruza la bicapa lipídica de la cubierta vírica. La molécula gp120 se relaciona directamente con la molécula gp41 y funciona como receptor vírico para el CD4 de la célula hospedadora. La cubierta vírica se deriva de la célula hospedadora y contiene algunas proteínas de la membrana de ésta, entre ellas moléculas MHC clases I y II. Dentro de la cubierta se encuentra el núcleo vírico, o nucleocápside, constituido por una capa de una proteína denominada p17 y una capa interior de una proteína llamada p24. El genoma del VIH posee dos copias de RNA monocatenario, las cuales se relacionan con dos moléculas de inversotranscriptasas (p64) y proteínas de nucleótido p10, una proteasa y p32, una integrasa. b) Micrografía electrónica de viriones de VIH amplificados 200 000 veces. Las proyecciones glucoproteínicas parecen "perillas" que se extienden desde la periferia de cada virión. *(Parte a adaptada de B. M. Peterlin y P. A. Luciw, 1988,* AIDS ***2:****S29; parte b de una micrografía de Hans Geldenblom del Robert Koch Institute (Berlín), en R. C. Gallo y L. Montagnier, 1988,* Scientific American ***259****(6):41.]*

ellas evitar cualquier maniobra que ponga en contacto la sangre de un individuo tal vez infectado con la piel herida o cortada o cualquiera de las mucosas. Se recomienda con insistencia el empleo de condones cuando se tengan relaciones sexuales con personas de las que no se sabe si padecen esta infección. Un factor que contribuye a la diseminación del VIH es el período prolongado después de la infección durante el que tal vez no aparezcan signos clínicos, pero el portador enfermo está en condiciones de infectar a otros. Por esa razón es de importancia capital instituir precauciones universales en todas las situaciones en que no se tiene seguridad acerca de la infección.

Es innegable que la epidemia del SIDA apareció en una época en que muchas personas creían que las enfermedades infecciosas habían dejado de ser amenazas graves para los habitantes de Estados Unidos y otras naciones industrializadas. Las vacunas y los antibióticos controlaban los agentes de las infecciones más graves. Se había celebrado poco antes la erradicación de la viruela a nivel mundial, y la poliomielitis había cedido terreno a los amplios esfuerzos de vacunación; las anteriores se consideraron etapas clave en el camino hacia la eliminación de la mayoría de las enfermedades infecciosas. El brote de SIDA destruyó la complacencia y desencadenó un esfuerzo masivo para combatir este trastorno. Además, la inmunodeficiencia que caracteriza al SIDA ha permitido la reaparición de otras enfermedades infecciosas como la tuberculosis, que entrañan el riesgo de diseminarse hacia poblaciones no infectadas por el VIH.

El retrovirus VIH-1 es el causante del síndrome de inmunodeficiencia adquirida

Pocos años después del reconocimiento del SIDA como enfermedad infecciosa, se descubrió y caracterizó el agente causante gracias a los esfuerzos efectuados en los laboratorios de Luc Montagnier en París y Robert Gallo en Bethesda (fig. 20-9). El síndrome de inmunodeficiencia era novedoso en una época en que el tipo de virus que lo producía era un **retrovirus**. Los retrovirus llevan su información genética en forma de RNA. Cuando el virus entra en una célula, el RNA es transcrito de manera inversa en DNA por una enzima codificada por el virus llamada transcriptasa inversa o, por brevedad, inversotranscriptasa (RT, del inglés *reverse transcriptase*). Como su nombre lo sugiere, esta transcriptasa invierte el proceso normal de transcripción y hace una copia en DNA del genoma vírico, codificado en RNA. Esta copia, que se denomina **provirus**, se integra en el genoma celular y se duplica junto con el DNA de la célula. Cuando el provirus se expresa para formar nuevos viriones, la célula sufre lisis. De manera alternativa, el provirus se conserva latente en la célula hasta que alguna señal reguladora inicia el proceso de expresión.

Antes del VIH-1 sólo se había descrito otro retrovirus humano, el virus I de la leucemia (o linfotrópico) de células T del ser humano (HTLV-I, del inglés *human T-cell lymphotropic [leukemia] virus I*). Este retrovirus es endémico en el sur de Japón y el Caribe. Aunque la mayor parte de los individuos infectados por el HTLV-I no manifiestan signos clínicos de enfermedad, unos cuantos desarrollan una afección grave, como leucemia de células T del adulto, que es agresiva y casi siempre letal, o un trastorno neurológico incapacitante progresivo llamado mielopatía relacionada con el HTLV-I (conocida como paraparesia espástica tropical en los primeros informes). Aunque las comparaciones de sus secuencias genómicas revelaron que el VIH-1 no es un pariente cercano del HTLV-I, las semejanzas en sus características globales hicieron que se empleara el nombre HTLV-III para el virus del SIDA en los primeros informes publicados. Existe también un virus humano relacionado que se ha llamado VIH-2, menos patógeno para el ser humano que el VIH-1. El VIH-2 es semejante a los virus aislados de los primates e infecta a algunos de los primates no humanos a los que no infecta el VIH-1.

Se han encontrado virus vinculados con el VIH-1 en primates no humanos. Estos virus, variantes del virus de la inmunodeficiencia de los simios, o VIS, producen inmunodeficiencia en ciertos monos infectados. En condiciones normales, las cepas de VIS no producen enfermedad en su hospedador normal, pero sí una inmunodeficiencia semejante al SIDA cuando se inyectan a otras especies. Por ejemplo, el virus obtenido del mono verde africano (VIS_{agm}) se encuentra en un porcentaje elevado de los monos verdes africanos silvestres por lo demás sanos. Sin embargo, cuando se inyecta este virus a monos de otras especies se induce una inmunodeficiencia grave y a menudo letal.

Se ha informado acerca de varios otros retrovirus de animales semejantes en mayor o menor grado al VIH-1. Entre ellos están los virus de la inmunodeficiencia de felinos y de bovinos y el virus de la leucemia murina. El estudio de estos virus de animales ha proporcionado datos sobre la naturaleza general de la acción de los retrovirus, pero no es posible obtener información específica sobre el VIH-1 al infectar con éste a animales, ya que no se multiplica en ellos. Sólo el chimpancé padece la infección por el VIH-1 a un nivel suficiente para ser de utilidad en los estudios sobre vacunas, pero los chimpancés infectados sólo rara vez desarrollan SIDA, lo que limita el valor de este modelo para el estudio de la patogenia vírica. Además, el número de chimpancés disponibles para estos estudios es escaso, y tanto los costos como los aspectos éticos de los experimentos con estos animales impiden el empleo generalizado de este modelo de infección. El ratón SCID (véase antes) reconstituido con tejido linfoide humano para la infección por el VIH-1 ha sido de utilidad para ciertos estudios sobre la infección por este virus, de manera particular para el desarrollo de fármacos que combaten la multiplicación vírica.

Las razones de la gama limitada de hospedadores para el VIH-1 tienen que ver no sólo con los receptores de superficie celular requeridos para la entrada del virus en la célula hospedadora, sino también con la dependencia del virus respecto de factores de esta célula para los sucesos iniciales en su proceso de multiplicación, como la transcripción y el empalme de mensajes víricos. Por ejemplo, las células murinas transfectadas con genes que median la expresión de los receptores humanos para el VIH-1 no brindan apoyo a la multiplicación de este virus porque carecen de otros factores del hospedador. En contraste, las células de criceto o conejo transfectadas para expresar los receptores humanos sostienen niveles de multiplicación vírica semejantes a los observados en las células humanas. A pesar de ciertos progresos en la comprensión de los factores necesarios para la infección por el VIH-1, no existe un candidato claro para convertirse en modelo animal de esta infección. Esta falta de modelos adecuados es un obstáculo para los esfuerzos destinados al desarrollo de fármacos y vacunas para combatir el SIDA.

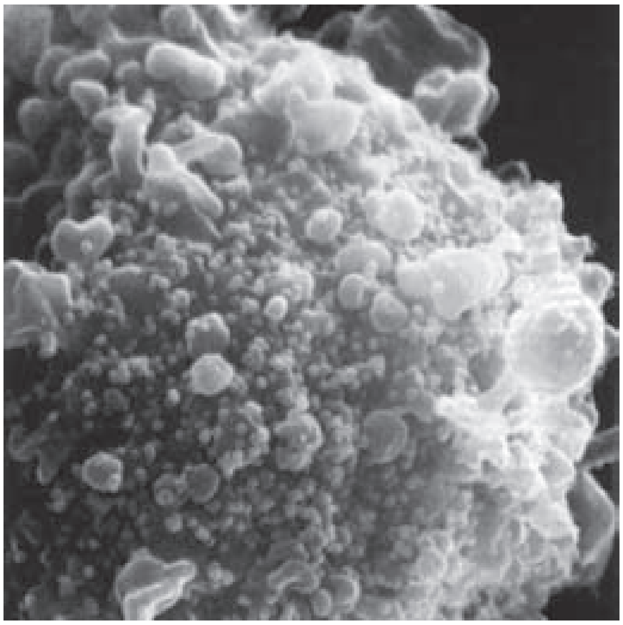


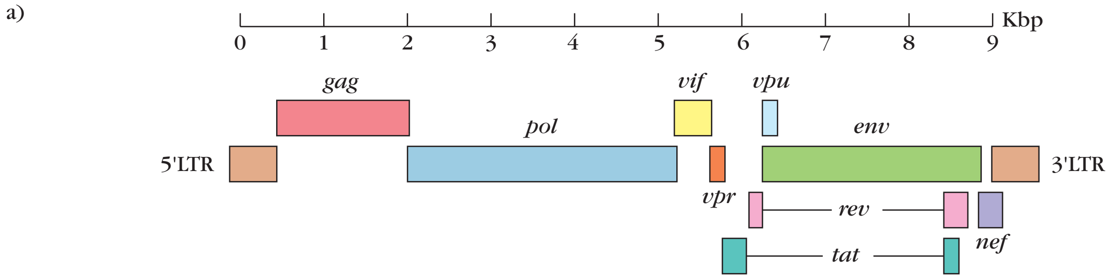
FIGURA 20-10 Una vez que el provirus VIH se activa, pueden observarse yemas que representan partículas víricas recién formadas sobre la superficie de la célula T infectada. La lesión celular extensa resultante de la gemación y la descarga de viriones produce la muerte de las células infectadas. *[Cortesía de R. C. Gallo, 1988,* Journal of Acquired Immune Deficiency Syndromes ***1**:521.]*

Los estudios in vitro revelaron el ciclo de multiplicación del VIH-1

El virus del SIDA puede infectar células T humanas en cultivo, multiplicarse por sí mismo y en muchos casos producir lisis de la célula hospedadora (fig. 20-10). Es mucho lo que se ha aprendido acerca del ciclo del vida del VIH-1 a partir de estudios in vitro. Se han caracterizado las diversas proteínas codificadas por el genoma vírico y se conocen las funciones de la mayor parte de ellas (fig. 20-11).

La primera etapa de la infección por el VIH es la fijación y la entrada del virus en la célula blanco. El VIH-1 infecta las células T que portan el antígeno CD4 en su superficie; por consiguiente, ciertas cepas del virus infectan monocitos y otras células que tienen también este antígeno en su superficie. La preferencia por las células $CD4^+$ se debe a una interacción de alta afinidad entre una proteína de cubierta (envoltura o env) del virus y el antígeno CD4 de la superficie celular. Aunque el virus se fija a este antígeno sobre la célula, esta interacción no basta para que ingrese en ella y produzca infección. Para que el VIH-1 infecte una célula se necesita la expresión de otras moléculas de la superficie celular, que son correceptores presentes en las células T y los monocitos. La infección de una célula T, ilustrada en la figura 20-12a, recibe ayuda del correceptor de quimiocina CXCR4. Un receptor análogo llamado CCR5 funciona de manera semejante en el monocito o el macrófago (cap. 13).

Una vez que el virus ha ingresado en la célula, el genoma de RNA del virus se transcribe de manera inversa y una copia en cDNA (provirus) se integra en el genoma del hospedador. El provirus integrado se transcribe, y los diversos mensajes del RNA vírico se empalman y traducen en proteínas, que en con-

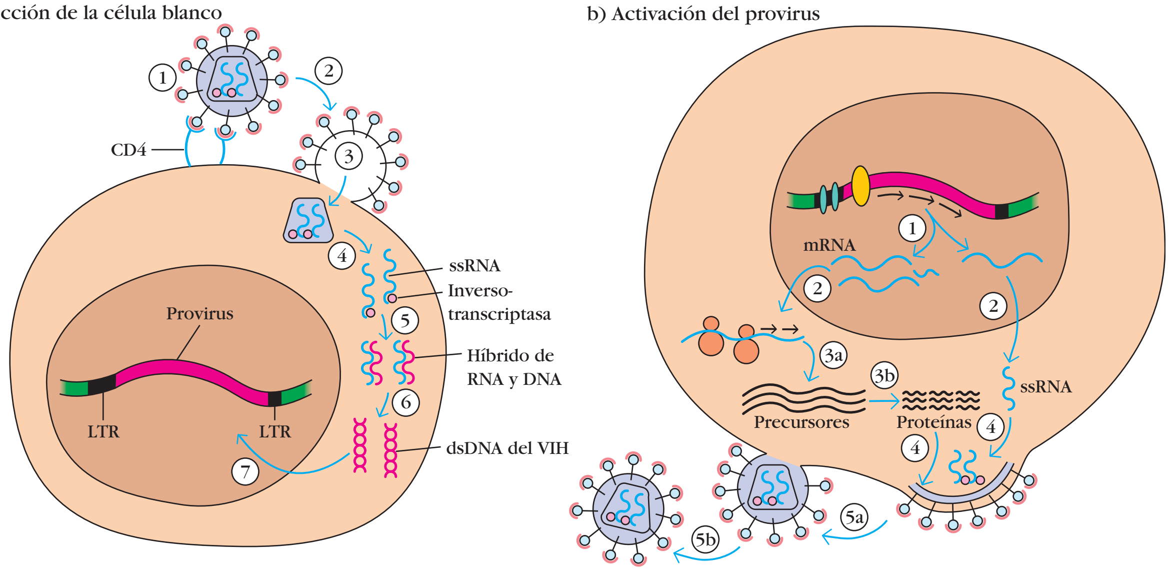


b)

Gen	Producto proteínico	Función de las proteínas codificadas
gag	Precursor de 53 kDa ↓	*Proteínas de la nucleocápside*
	p17	Forma la nucleocápside externa
	p24	Forma la nucleocápside interna
	p9	Es un componente del nucleoide
	p7	Se une directamente al RNA genómico
env	Precursor de 160 kDa ↓	*Glucoproteínas de cubierta*
	gp41	Es una proteína transmembranal relacionada con gp120 y necesaria para la fusión
	gp120	Protruye desde la cubierta y se fija al CD4
pol	Precursor ↓	*Enzimas*
	p64	Tiene actividad de inversotranscriptasa y RNasa
	p51	Tiene actividad de inversotranscriptasa
	p10	Es una proteasa que escinde el precursor *gag*
	p32	Es una integrasa
		Proteínas reguladoras
tat	p14	Activa intensamente la transcripción del DNA provírico
rev	p19	Permite la exportación de mRNA no empalmados y con un empalme desde el núcleo
		Proteínas auxiliares
nef	p27	Inhibe la producción de MHC clase I y CD4 de la célula hospedadora
vpu	p16	Se requiere para el ensamblaje y la gemación vírica eficientes Promueve la descarga extracelular de partículas víricas, degrada CD4 en ER
vif	p23	Promueve la maduración y la infectividad de la partícula vírica
vpr	p15	Promueve la localización nuclear del complejo de preintegración, inhibe la división celular

FIGURA 20-11 Organización genética del VIH-1 (a) y funciones de las proteínas codificadas (b). Los tres genes mayores (*gag, pol* y *env*) codifican precursores poliproteínicos que se escinden para producir las proteínas de la nucleocápside, las enzimas requeridas para la multiplicación, y las proteínas de la cubierta central. De los seis genes restantes, tres (*tat, rev* y *nef*) codifican proteínas reguladoras que tienen un papel importante en el control de la expresión, dos (*vif* y *vpu*) codifican proteínas necesarias para la maduración del virión, y el último (*vpr*) codifica a un activador transcripcional débil. La repetición terminal larga 5′ (LTR) contiene secuencias a las que se fijan diversas proteínas reguladoras. La organización de los genomas del VIH-2 y el VIS es muy semejante, salvo porque en ambos el gen *vpu* es reemplazado por *vpx*.

FIGURA 20-12 PARA VISUALIZACIÓN DE CONCEPTOS: Infección por VIH de las células blanco y activación del provirus


a) Infección de la célula blanco

b) Activación del provirus

① El gp120 del VIH se fija al CD4 sobre la célula blanco.

② El dominio fusógeno en gp41 y CXCR4, un receptor unido a proteína G en la membrana de la célula blanco, media la fusión.

③ La nucleocápside que contiene el genoma vírico y las enzimas entra en la célula.

④ El genoma vírico y las enzimas se descargan después de la remoción de las proteínas centrales.

⑤ La inversotranscriptasa vírica cataliza la transcripción inversa del ssRNA, con formación de híbridos de RNA y DNA.

⑥ La ribonucleasa H degrada parcialmente la plantilla original de RNA, a lo que sigue la síntesis de la segunda cadena de DNA para producir dsDNA del VIH.

⑦ El dsDNA vírico se transpone en seguida al núcleo y se integra en el DNA cromosómico del hospedador por acción de la enzima integrasa vírica.

① Los factores de transcripción estimulan la transcripción del DNA provírico en el ssRNA genómico y, después del procesamiento, de varios mRNA.

② El RNA vírico es exportado hacia el citoplasma.

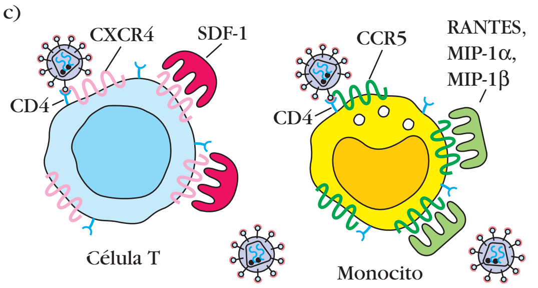
(3a) Los ribosomas de la célula hospedadora catalizan la síntesis de proteínas precursoras víricas.

(3b) La proteasa vírica segmenta los precursores en proteínas víricas.

④ El ssRNA y las proteínas del VIH se ensamblan por debajo de la membrana de la célula hospedadora, en la que se insertan gp41 y gp120.

(5a) La membrana celular experimenta gemación y forma la cubierta vírica.

(5b) Las partículas víricas descargadas completan su maduración; la proteasa presente en las partículas víricas escinde las proteínas precursoras incorporadas.


c)

a) Después de la entrada del VIH en las células y de la formación de dsDNA, la integración del DNA vírico en el genoma de la célula hospedadora crea el provirus. b) El provirus se conserva latente hasta que ciertos sucesos dentro de la célula infectada desencadenan su activación, con formación y descarga de partículas víricas. c) Aunque el receptor CD4 fija la glucoproteína de cubierta del VIH-1, se necesita un segundo receptor para que ingrese en la célula y la infecte. Las cepas trópicas de células T del VIH-1 emplean el correceptor CXCR4, en tanto que las cepas trópicas de macrófagos recurren al receptor CCR5. Ambos son receptores para quimiocinas, y sus ligandos normales pueden bloquear la infección de la célula por el VIH.

junto con una nueva copia completa del genoma de RNA se emplean para formar nuevas partículas víricas (fig. 20-12b). La proteasa vírica escinde las proteínas gag del virus en las formas que constituyen la cápside nuclear (fig. 20-10) en una partícula vírica infecciosa madura. Como se describe más adelante, las diferentes etapas de este proceso de multiplicación vírica constituyen blancos para los fármacos antivíricos.

El descubrimiento de que los receptores CXCR4 y CCR5 sirven como correceptores para el VIH-1 en las células T y los macrófagos, respectivamente, explicó por qué algunas cepas de este virus infectan de manera preferencial las células T (cepas trópicas T) en tanto que otras prefieren a los macrófagos (cepas trópicas M). Una cepa trópica T emplea el correceptor CXCR4, mientras que las cepas trópicas M usan el CCR5. Este empleo de diferentes correceptores ayudó también a explicar las diferentes funciones de las citocinas y las quimiocinas en la multiplicación vírica. Se supo a partir de estudios in vitro que ciertas quimiocinas tenían un efecto negativo sobre la multiplicación del virus, en tanto que ciertas citocinas proinflamatorias tenían un efecto positivo. Ambos correceptores del VIH, CCR5 y CXCR4, funcionan como receptores de quimiocinas (cuadro 13-2). Como los receptores no pueden unirse de modo simultáneo al VIH-1 y a su quimiocina ligando, hay competencia por el receptor entre el virus y el ligando normal (fig. 20-12c), y la quimiocina puede bloquear la entrada del virus en la célula hospedadora. Aunque las quimiocinas compiten con el VIH por el uso del correceptor y por tanto inhiben la entrada del virus en la célula, las citocinas proinflamatorias inducen una mayor expresión de los receptores de quimiocinas sobre la superficie celular, lo que torna a las células más susceptibles a la entrada del virus.

La infección de las células T por ciertas cepas del VIH-1 produce células gigantes o sincicios. Éstos se forman por fusión de un grupo de células causada por la interacción de la proteína gp120 de la cubierta vírica que se encuentra en la superficie de las células infectadas con CD4 y los correceptores que están en las superficies de otras células, infectadas o no. Después de la fijación inicial, la acción de otras moléculas de adhesión celular fusiona entre sí las células en una gran masa multinuclear que tiene una membrana abombada y fusionada característica que acaba por estallar. La formación de sincicios puede ser bloqueada por anticuerpos contra algunos de los epítopos de la molécula CD4, por formas solubles de esta molécula (obtenidas mediante expresión in vitro de un gen CD4 tratado por ingeniería genética para que carezca de la porción transmembranal) y por anticuerpos contra las moléculas de adhesión celular. Los viriones aislados individuales del VIH-1 difieren en su capacidad de inducir formación de sincicios.

Los especímenes de VIH-1 de diferentes orígenes se clasificaban antes como inductores de sincicios (IS) o no inductores de sincicios (NSI). En la mayor parte de los casos, estas diferencias se correlacionaban con la capacidad del virus de infectar células T o macrófagos: las cepas trópicas T eran IS, mientras que las trópicas M eran NSI. Las clasificaciones más recientes del VIH-1 se basan en el correceptor que el virus emplea; existe una buena correlación, aunque no absoluta, entre el empleo del correceptor CXCR4, que se encuentra sobre las células T, y la capacidad de inducir la formación de sincicios. Las cepas NSI utilizan el correceptor CCR5, que se halla en los monocitos. Los estudios de la proteína gp120 de la cubierta vírica identificaron una región llamada V3, que participa en la selección de los receptores empleados por el virus. Un estudio de Mark Goldsmith y Bruce Chesebro y sus colaboradores indica que puede bastar con una diferencia de un solo aminoácido en esta región de la proteína gp120 para determinar el receptor que se usa.

La infección por el VIH-1 propicia infecciones oportunistas

El aislamiento del VIH-1 y su cultivo han permitido la purificación de proteínas víricas y el desarrollo de estudios sobre la infección que ocasiona. La prueba aplicada más a menudo tiene como finalidad identificar la presencia de anticuerpos contra las proteínas de este virus. Éstas aparecen en general en el suero de los individuos infectados unos tres meses después de que ocurrió la infección. Cuando aparecen los anticuerpos se dice que el individuo se ha seroconvertido o es seropositivo al VIH-1. Aunque la evolución precisa de la infección y el inicio del trastorno por este virus varían en grado considerable en los diferentes pacientes, es posible trazar un esquema general para valorar el avance del SIDA (fig. 20-13). El curso de la infección por el VIH-1 se inicia sin anticuerpos anti-VIH-1 perceptibles ni presencia del virus, y progresa hasta el SIDA en toda su

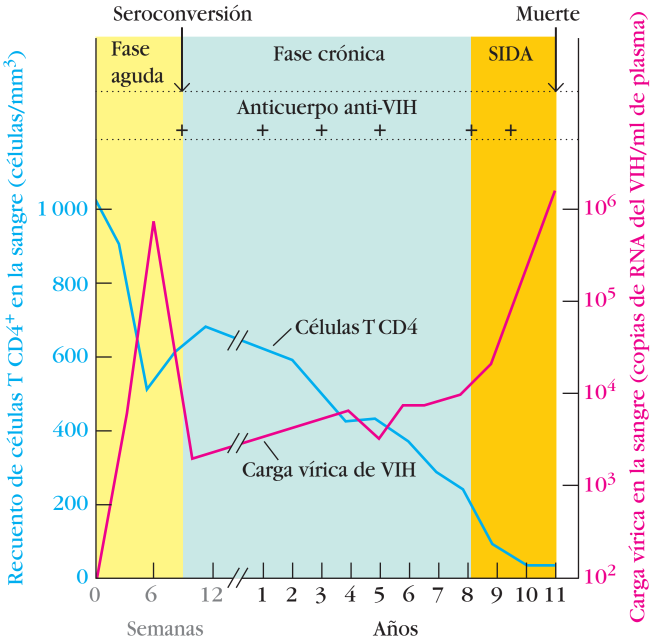


FIGURA 20-13 Perfil serológico de la infección por VIH que ilustra tres etapas del proceso infeccioso. Poco después de la infección es perceptible RNA vírico en el suero. Sin embargo, la infección por el VIH se identifica más a menudo por la presencia de anticuerpo anti-VIH después de la seroconversión, que ocurre casi siempre en plazo de unos cuantos meses después de contraerse la infección. Por lo general no aparecen síntomas clínicos indicadores de SIDA durante al menos ocho años después de la infección, aunque este intervalo es variable. El inicio del SIDA clínico es anunciado con frecuencia por descenso de las cifras de células T y aumento de la carga vírica. *[Adaptada de A. Fauci et al., 1996,* Annals of Internal Medicine ***124****:654.]*

CUADRO 20-3 Diagnóstico clínico de individuos infectados por VIH

	CATEGORÍAS CLÍNICAS*		
Recuento de células T $CD4^+$	**A**	**B**	**C**
≥ 500/μl	A1	B1	**C1**
200-499/μl	A2	B2	**C2**
< 200 μl	**A3**	**B3**	**C3**

DE LA ENFERMEDAD INDICADORA DE SIDA

Categoría A

Paciente asintomático: sin síntomas en el momento de la infección por VIH
Infección primaria aguda: enfermedad del tipo de la fiebre ganglionar que dura unas cuantas semanas a partir del momento de la infección
Linfadenopatía generalizada persistente (PGL): aumento de tamaño de los ganglios linfáticos que persiste durante tres meses o más sin datos de infección

Categoría B

Angiomatosis bacilar
Candidosis bucofaríngea (aftas o muguet)
Candidosis vulvovaginal: persistente, frecuente o que reacciona mal al tratamiento
Displasia cervical (moderada a grave)/carcinoma cervical in situ
Síntomas generales como fiebre (> 38.5°C) o diarrea que dura > 1 mes
Leucoplaquia vellosa bucal
Herpes zoster (fuegos); ocurren por lo menos dos erupciones definidas que abarcan más de un dermatoma
Púrpura trombocitopénica idiopática
Listeriosis
Enfermedad inflamatoria pélvica, en particular absceso tuboovárico
Neuropatía periférica

Categoría C

Candidosis bronquial, traqueal o pulmonar
Candidosis esofágica
Cáncer cervical (invasor)
Coccidioidomicosis diseminada o extrapulmonar
Criptococosis extrapulmonar
Criptosporidiosis intestinal crónica (> 1 mes de duración)
Enfermedad por citomegalovirus (en sitios distintos de hígado, bazo o ganglios)
Retinitis por citomegalovirus (con pérdida de la visión)
Encefalopatía relacionada con VIH
Herpes simple: úlcera(s) crónica(s) (> 1 mes de duración), bronquitis, neumonitis o esofagitis
Histoplasmosis diseminada o extrapulmonar
Isosporiasis intestinal crónica (> 1 mes de duración)
Sarcoma de Kaposi
Linfoma de Burkitt
Linfoma inmunoblástico
Linfoma cerebral primario
Enfermedad por complejo de *Mycobacterium avium* o *M. kansasii*, diseminada o extrapulmonar
Infección por *Mycobacterium tuberculosis* en cualquier sitio
Enfermedad por *Mycobacterium*, otras especies o no definidas, diseminada o extrapulmonar
Neumonía por *Pneumocystis carinii*
Leucoencefalopatía multifocal progresiva
Septicemia por *Salmonella* (recurrente)
Toxoplasmosis cerebral
Síndrome de emaciación por VIH

*Todas las categorías indicadas en negritas se consideran SIDA. En el caso del diagnóstico de la categoría A, no puede haber un trastorno de las categorías B o C; en el caso de la categoría B, no puede haber un trastorno de la categoría C.

FUENTE: CDC guidelines for AIDS diagnosis, revisión de 1993.

expresión. El diagnóstico de esta enfermedad abarca pruebas de infección por el VIH-1 (presencia de anticuerpos o virus en la sangre), números muy disminuidos de células T $CD4^+$ (<200 células/mm^3), reacciones de hipersensibilidad tardía alteradas o ausentes e infecciones por microorganismos oportunistas (cuadro 20-3). Por lo regular, los sujetos que padecen SIDA sucumben por tuberculosis, neumonía, diarrea agotadora grave o diversas afecciones malignas. El tiempo transcurrido entre la adquisición del virus y la muerte por inmunodeficiencia promedia nueve a 12 años. Durante el período entre la infección y la enfermedad grave puede haber pocos síntomas. La infección primaria en una minoría de los individuos es sintomática, con fiebre, linfadenopatía (ganglios linfáticos tumefactos) y erupción, pero estos síntomas no suelen persistir más allá de unas cuantas semanas. Más a menudo la infección primaria pasa inadvertida y va seguida por una fase crónica prolongada durante la cual el individuo infectado manifiesta pocos signos o ninguno de infección por el VIH-1.

La primera indicación franca de SIDA puede ser una infección oportunista por el hongo *Candida albicans*, que causa úlceras en la boca (aftas o muguet) y, en las mujeres, una infección vulvovaginal por levaduras que no reacciona al tratamiento. Un indicador temprano puede ser también la tos persistente consecutiva a la infección por *P. carinii* de los pulmones. El incremento de la concentración de VIH-1 circulante (carga vírica) en el plasma y la reducción concomitante del número de células T

CD4$^+$ son casi siempre el anuncio de esta primera aparición de los síntomas. Se ha establecido cierta relación entre el número de células T CD4$^+$ y el tipo de infección que experimenta el paciente (cuadro 20-3). Son de gran interés para los inmunólogos los sucesos que ocurren entre el encuentro inicial con el VIH-1 y la invasión y el colapso del sistema inmunitario del hospedador. La comprensión de la manera en que el sistema inmunitario mitiga al VIH-1 durante esta fase crónica puede culminar en el diseño de medidas terapéuticas y preventivas eficaces.

La investigación del proceso subyacente al avance de la infección por VIH hasta SIDA ha revelado una interacción dinámica entre el virus y el sistema inmunitario. El suceso infeccioso inicial causa diseminación del virus por los órganos linfoides y una intensa inmunorreacción resultante. Probablemente es a través de las células dendríticas como el virus suele propagarse desde el punto de contacto inicial hasta los órganos linfoides, donde entra en contacto con células T activadas y comienza un ciclo de multiplicación productivo. Es posible que las células dendríticas capten el virus, lo lleven a zonas ricas en células T y proporcionen la coestimulación necesaria para activar éstas y hacerlas propicias para la infección por VIH-1. La observación directa del VIH-1 en el sitio de interacción de células T y células dendríticas apoya la factibilidad de este mecanismo para la propagación inicial del VIH-1 tras la exposición (fig. 20-14).

Después de la exposición del tejido linfoide al virus, una respuesta inmunitaria en la que participan tanto anticuerpo como linfocitos T CD8$^+$ mantiene bajo control la multiplicación vírica; después de la viremia explosiva inicial (concentraciones elevadas de virus en la circulación), el contenido de virus en la sangre circulante alcanza un estado estable. Aunque en condiciones normales la persona infectada no tiene signos clínicos de enfermedad durante esta etapa, prosigue la multiplicación del virus y éste se puede reconocer en la circulación mediante pruebas sensibles de reacción en cadena de la polimerasa (PCR) para el RNA vírico. Estos estudios de PCR, que miden la **carga vírica** (número de copias del genoma vírico en el plasma) han asumido gran importancia en la determinación del estado y el pronóstico del paciente. Incluso cuando la concentración de virus en el plasma es estable, se producen grandes cantidades de éstos dentro de la célula T CD4$^+$ infectada; se descargan hasta 10^9 viriones todos los días, que infectan y destruyen de manera continua células T hospedadoras adicionales. A pesar de esta elevada tasa de multiplicación, el sistema inmunitario conserva bajo control al virus durante toda la fase crónica de la infección, y la concentración vírica circulatoria a los seis meses de adquirida la infección es un buen factor de predicción del curso que seguirá la enfermedad. Los valores bajos de virus en este período se correlacionan con un tiempo más prolongado durante el cual el sujeto infectado se conserva libre de infecciones oportunistas. Pero el virus acaba por abrirse paso a través de las defensas inmunitarias del hospedador, lo que tiene como consecuencia incremento de la carga vírica, disminución del número de células T CD4$^+$, aumento de las infecciones oportunistas y muerte del paciente.

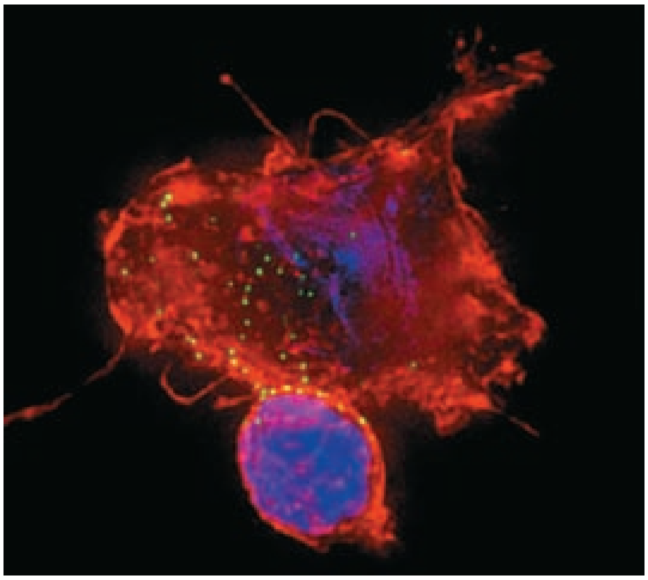


FIGURA 20-14 Interacción entre una célula dendrítica y una célula T, que indica el paso de VIH-1 (puntos verdes) entre ellas. Obsérvese que las partículas se agregan en la interfaz entre la célula dendrítica (más grande) y la célula T. *[Cortesia de Thomas J. Hope, Northwestern University.]*

Pese a que la carga vírica en el plasma se conserva bastante estable durante el período de infección crónica por el VIH, el examen de los ganglios linfáticos y el tejido de las vías gastrointestinales revela una situación diferente. Los fragmentos de ganglios obtenidos por biopsia de enfermos infectados pusieron de manifiesto valores elevados de células infectadas en todas las etapas de la infección; en muchos casos el virus había destruido por completo la estructura del ganglio linfático mucho antes que la carga vírica aumentara por arriba del nivel de estado estable. Datos recientes obtenidos en los laboratorios de Ashley Haas y Daniel Douek indican un impresionante agotamiento de células T CD4$^+$ en tubo digestivo, ganglios linfáticos y sangre periférica durante la fase crónica de la infección (fig. 20-15).

La disminución de las células T CD4$^+$ es la piedra angular del diagnóstico de SIDA. Se han propuesto diversas explicaciones para el agotamiento de estas células en los pacientes. En los estudios iniciales se descartaron como causas primarias la infección vírica y la destrucción de las células T CD4$^+$ de manera directa, ya que no se encontraron los grandes números de células T circulantes infectadas por el VIH pronosticados por el modelo. Estudios más recientes indican que el motivo de la dificultad para encontrar las células infectadas es que el virus las mata con mucha rapidez; la vida media de la célula T CD4$^+$ infectada de manera activa es menor de 1.5 días. Son menores las cifras de células T CD4$^+$ que quedan infectadas, pero no multiplican de manera activa al virus. Estas células infectadas de modo latente persisten durante períodos prolongados y el DNA provírico integrado se multiplica durante la división celular en conjunto con el DNA de la célula. Las investigaciones en que se ha reducido la carga vírica mediante tratamiento antirretrovírico demuestran un aumento concurrente de las cifras de células T CD4$^+$ en la sangre periférica. Estos datos brindan apoyo a un modelo de interacción dinámica entre los virus y las células T, con ocurrencia simultánea de niveles elevados de producción vírica y agotamiento rápido de las células T CD4$^+$ infectadas. Aunque pueden idearse otros mecanismos para el agotamiento de las células T CD4$^+$, la infección por el VIH se conserva como el primer factor sospechoso.

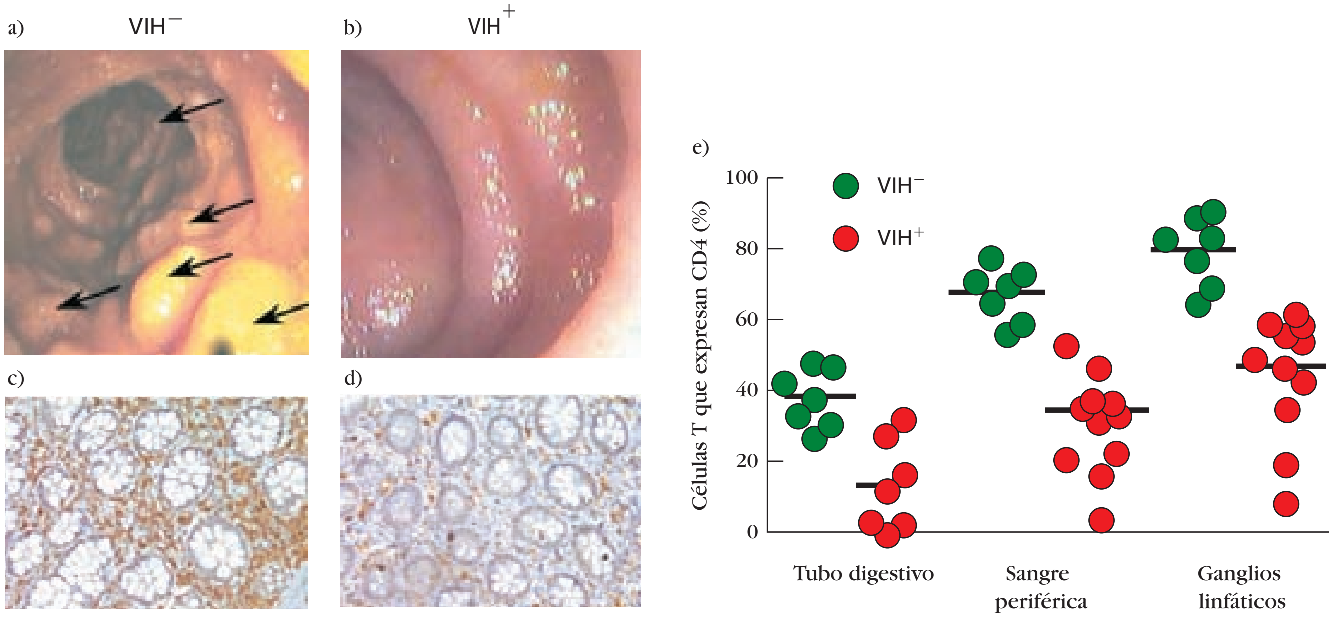


FIGURA 20-15 Pruebas endoscópicas e histológicas del agotamiento de células T CD4$^+$ en el tubo digestivo de pacientes con SIDA. En los recuadros (a) y (b) se muestran vistas de la luz intestinal de un individuo normal y un corte teñido de una biopsia de la misma zona (íleon terminal), donde las células T se tiñeron con anticuerpo (color rojizo). Un análisis similar de muestras de un paciente con SIDA en los recuadros (c) y (d) indica ausencia de tejido linfoide normal y tinción escasa de células T CD4$^+$. e) Comparación de cifras de células T CD4$^+$ en muestras de tubo digestivo, sangre periférica (PB) y ganglios linfáticos de individuos positivos y negativos para SIDA. *[Tomada de J. M. Brenchley et al., 2004,* Journal of Experimental Medicine ***200****:749.]*

No sólo el agotamiento de las células T CD4$^+$, sino también otras consecuencias inmunológicas, pueden medirse en los sujetos infectados por el VIH durante la progresión hasta el SIDA. Entre ellas están disminución o ausencia de la hipersensibilidad tardía a los antígenos a los que el individuo reacciona en condiciones normales. Las concentraciones séricas de inmunoglobulinas, en particular IgG e IgA, sufren un incremento agudo en el enfermo con SIDA. Este incremento puede deberse a la elevación de las concentraciones de una subpoblación de células B con expresión baja de receptores CD21 y aumento de la secreción de inmunoglobulinas. Esta población prolifera mal en respuesta a los mitógenos de la célula B. Están atenuados todos los aspectos de la inmunorreacción, como la reacción proliferativa a mitógenos, antígenos o aloantígenos. En general, la persona infectada por el VIH pierde la capacidad de activar reacciones de las células T en una secuencia predecible: se pierden primero las respuestas a antígenos específicos (p. ej., virus de la gripe), luego disminuye la reacción a los aloantígenos y por último no se observa reacción alguna a los agentes mitógenos, como concanavalina A y fitohemaglutinina. En el cuadro 20-4 se enumeran algunas de las anomalías inmunitarias observadas en el SIDA.

Los pacientes infectados por el VIH-1 a menudo exhiben disfunción de los sistemas nerviosos central y periférico. Por medio de sondas de VIH-1 se han identificado secuencias víricas específicas de DNA y RNA en los cerebros de niños y adultos afectados por SIDA, lo que sugiere que hay multiplicación vírica a este nivel. La comparación cuantitativa de especímenes de cerebro, ganglio linfático, bazo y pulmón de personas con SIDA y encefalopatía progresiva indicó que el cerebro se encontraba densamente infectado. Una complicación frecuente durante las etapas tardías de la infección por el VIH es el complejo demencial del SIDA, síndrome neurológico que se caracteriza por anormalidades de la función cognoscitiva, el rendimiento motor y el comportamiento. Aún es necesario dilucidar si la demencia del SIDA y otros efectos clínicos e histopatológicos reconocidos en el sistema nervioso central de los sujetos infectados por el VIH son consecuencias de la acción de los antígenos víricos sobre el cerebro o de las reacciones inmunitarias al virus, o bien un efecto de la infección por agentes oportunistas.

Los agentes terapéuticos inhiben la multiplicación de los retrovirus

El desarrollo de una vacuna para prevenir la diseminación del SIDA es la prioridad máxima de los inmunólogos, pero también tiene importancia crítica desarrollar fármacos y tratamientos que reviertan los efectos del VIH-1 en los sujetos infectados. Se estima que tan sólo en Estados Unidos, el número de personas con esta infección se aproxima a un millón; para todas ellas la progresión al SIDA sería una inmensa tragedia. Son varias las medidas disponibles para el desarrollo de fármacos antivíricos eficaces. El ciclo de vida del VIH manifiesta varios puntos susceptibles que podrían quedar bloqueados por agentes farmacéuticos (fig. 20-16). La clave para los buenos resultados de estos tratamientos se encuentra en que sean específicos para el VIH-1 e interfieran en grado mínimo con los procesos celulares normales. Hasta ahora son dos los tipos de agentes antivíricos que han encontrado aplicación frecuente (cuadro 20-5). El primer éxito de la terapia fue el de los agentes que interfieren en la

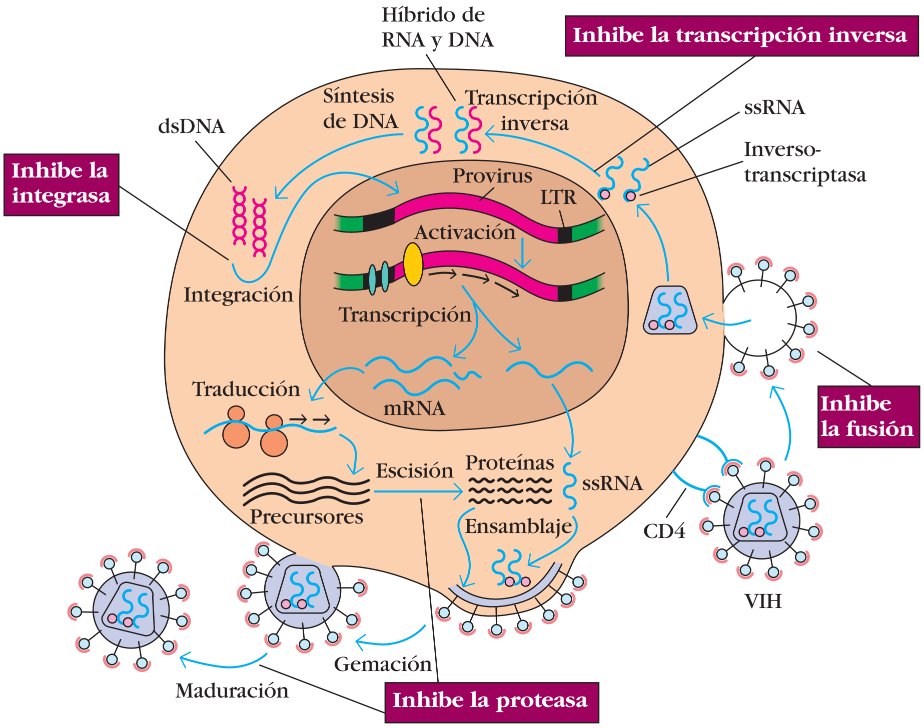

Híbrido de RNA y DNA
Inhibe la transcripción inversa
Síntesis de DNA
Transcripción inversa
ssRNA
dsDNA
Inverso-transcriptasa
Inhibe la integrasa
Provirus
LTR
Activación
Integración
Transcripción
Inhibe la fusión
Traducción
mRNA
Escisión
Proteínas
ssRNA
Precursores
Ensamblaje
CD4
VIH
Gemación
Maduración
Inhibe la proteasa

FIGURA 20-16 Las etapas del ciclo de multiplicación vírica ofrecen blancos para los fármacos antirretrovíricos. En la actualidad, los medicamentos autorizados que poseen actividad anti-VIH bloquean la etapa de transcripción inversa del RNA vírico hasta cDNA vírico o inhiben la proteasa vírica necesaria para segmentar las proteínas precursoras víricas en las proteínas requeridas para ensamblar un nuevo virión y completar su maduración hasta virus infecciosos.

CUADRO 20-4 Anormalidades inmunitarias relacionadas con la infección por VIH

Etapa de la infección	Anormalidades típicas observadas
	ESTRUCTURA DE LOS GANGLIOS LINFÁTICOS
Temprana	Infección y destrucción de células dendríticas; cierta desintegración estructural
Tardía	Lesión extensa y necrosis tisular; pérdida de células dendríticas foliculares y centros germinales; incapacidad de capturar antígenos o apoyar la activación de las células T y B
	CÉLULAS T COLABORADORAS (T_H)
Temprana	No hay reacción proliferativa in vitro al antígeno específico
Tardía	Disminución de las cifras de células T_H correspondientes a las actividades colaboradoras; no hay reacción de las células T a los mitógenos o los aloantígenos
	PRODUCCIÓN DE ANTICUERPO
Temprana	Producción incrementada de IgG e IgA inespecíficas, pero síntesis reducida de IgM
Tardía	No hay proliferación de células B específicas para el VIH-1: no hay anticuerpos anti-VIH perceptibles en algunos pacientes; mayores cifras de células B con CD21 bajo y aumento en la secreción de Ig
	PRODUCCIÓN DE CITOCINAS
Temprana	Aumento de las concentraciones de algunas citocinas
Tardía	Cambio de la producción de citocinas desde el subconjunto de células T_H1 hacia el subconjunto de células T_H2
	HIPERSENSIBILIDAD TARDÍA
Temprana	Reducción muy considerable de la capacidad proliferativa de las células T_H1 y disminución de la reactividad a las pruebas cutáneas
Tardía	Eliminación de la reacción DTH; ausencia completa de la reactividad cutánea
	CÉLULAS T CITOTÓXICAS (T_C)
Temprana	Reactividad normal
Tardía	Reducción pero no eliminación de la actividad de CTL a causa de trastorno de la capacidad de producir CTL a partir de las células T_C

CUADRO 20-5 Algunos fármacos contra el VIH utilizados en clínica

Nombre genérico	Posología típica	Algunos efectos adversos potenciales
INHIBIDORES DE INVERSOTRANSCRIPTASA: ANÁLOGOS DE NUCLEÓSIDO		
Didanosina (ddl)	Dos comprimidos dos veces al día con el estómago vacío	Náuseas, diarrea, inflamación pancreática, neuropatía periférica
Entricitabina (TTC)	Un comprimido una vez al día	Cefalea, diarrea, náusea, exantema
Lamivudina (3TC)	Un comprimido dos veces al día	Por lo general ninguno
Estavudina (d4T)	Un comprimido dos veces al día	Neuropatía periférica
Zalcitabina (ddC)	Un comprimido tres veces al día	Neuropatía periférica, inflamación bucal, inflamación pancreática
Zidovudina (AZT)	Un comprimido dos veces al día	Náuseas, cefalea, anemia, neutropenia (bajos recuentos de neutrófilos), debilidad, insomnio
Comprimido con lamivudina y zidovudina	Un comprimido dos veces al día	Igual que con zidovudina
Abacavir	Dos comprimidos una vez al día	Náusea, vómito, diarrea, acidosis láctica (hepatopatía grave)
Tenofovir	Un comprimido una vez al día	Náusea, vómito, mayor riesgo de fracturas
INHIBIDORES DE INVERSOTRANSCRIPTASA: NO ANÁLOGOS DE NUCLEÓSIDO		
Delavirdina	Cuatro comprimidos tres veces al día (mezclados con agua); no tomar durante una hora antiácidos o didanosina	Exantema, cefalea, hepatitis
Nevirapina	Un comprimido dos veces al día	Exantema, hepatitis
Efavirenz	Un comprimido una vez al día	Mareo, insomnio, exantema
INHIBIDORES DE PROTEASA		
Indinavir	Dos comprimidos tres veces al día con el estómago vacío o con un bocadillo bajo en grasa y no dentro de las dos horas siguientes a didanosina	Cálculos renales, náusea, cefalea, visión borrosa, mareo, exantema, sabor metálico, distribución anormal de grasa, elevación de triglicéridos y colesterol, intolerancia a la glucosa
Nelfinavir	Tres comprimidos tres veces al día con algún alimento	Diarrea, distribución anormal de la grasa, elevación de triglicéridos y colesterol, intolerancia a la glucosa
Ritonavir	Seis comprimidos dos veces al día (o cuatro dos veces al día si se toman con saquinavir) con alimentos, pero no dentro de las dos horas siguientes a didanosina	Náusea, vómito, diarrea, dolor abdominal, cefalea, sensación de pinchazos en la piel, hepatitis, debilidad, distribución anormal de grasa, elevación de triglicéridos y colesterol, intolerancia a la glucosa
Saquinavir	Seis comprimidos tres veces al día (o dos comprimidos dos veces al día si se toman con ritonavir) con una comida abundante	Náuseas, diarrea, cefalea, distribución anormal de grasa, elevación de triglicéridos y colesterol, intolerancia a la glucosa
Atazanavir	Dos comprimidos una vez al día	Debe usarse con otros dos fármacos cuando menos
Fosamprenavir cálcico (?)	Dos comprimidos dos veces al día	Anorexia, malestar general, diarrea, náusea, vómito
INHIBIDORES DE LA FUSIÓN		
Enfuvirtida	Inyección subcutánea dos veces al día	Dolor en el sitio de inyección, mareo, insomnio, entumecimiento de pies y piernas

transcripción inversa del RNA en cDNA vírico; diversos medicamentos suministrados con frecuencia operan en esta etapa. Una segunda etapa de la multiplicación vírica que ha resultado accesible al bloqueo es el momento en que las proteínas precursoras se escinden en las unidades necesarias para la formación de un nuevo virión maduro. Esta etapa requiere la acción de una proteasa vírica específica que puede ser inhibida por ciertos agentes químicos; éstos impiden la formación de partículas víricas infecciosas. Un tercer tipo de fármaco recién aprobado, la enfuvirtida, es un inhibidor de la fusión que impide que el virus ingrese en las células blanco.

El prototipo de los agentes farmacológicos que interfieren en la transcripción inversa es la zidovudina, o AZT (azidotimidina). La incorporación de la AZT, análogo de los nucleósidos, en la cadena creciente de cDNA del retrovirus hace que la cadena termine. La AZT es eficaz sólo en ciertos enfermos, y su eficacia es limitada aún más porque su administración prolongada produce diversos efectos adversos y se desarrollan mutantes víricos resistentes en los pacientes tratados con ella. La AZT que se administra es usada no sólo por la inversotranscriptasa del VIH-1 sino también por la polimerasa de DNA humana. La incorporación de la AZT en el DNA de las células del hospedador las mata. Los precursores de los eritrocitos son especialmente sensibles a la AZT, de lo que resultan anemia y otros efectos adversos. En un procedimiento distinto para el bloqueo de la transcripción inversa se emplean fármacos como nevirapina y delavirdina, que inhiben la acción de la inversotranscriptasa.

Los fármacos de una segunda clase, denominados inhibidores de proteasa, han tenido eficacia cuando se administran junto con AZT y otros análogos de los nucleósidos. El tratamiento actual del SIDA es combinado y consiste en regímenes designados de manera global como terapia antivírica altamente activa (HAART, del inglés *highly active anti-retroviral therapy*). En la mayor parte de los casos se trata de una combinación de dos análogos de nucleósidos y un inhibidor de proteasa. Esta combinación parece superar la capacidad del virus de producir con rapidez mutantes farmacorresistentes. En muchos casos la HAART ha disminuido la carga vírica hasta niveles imperceptibles por los métodos actuales, y ha mejorado la salud de los enfermos de SIDA al punto de que éstos pueden funcionar de nueva cuenta en su nivel normal. La reducción del número de defunciones por SIDA en Estados Unidos en los últimos años (fig. 20-7) se atribuye a este avance terapéutico. A pesar del optimismo suscitado por los buenos resultados de la HAART, algunas desventajas actuales son el programa cronológico estricto de administración y el gran número de comprimidos que deben tomarse todos los días. Por consiguiente, puede haber efectos adversos graves (cuadro 20-5) que, en algunas personas, son demasiado ominosos para que se les pueda someter a HAART.

El éxito de la HAART en el SIDA ha abierto la discusión sobre la posibilidad de erradicar todos los virus del individuo infectado y, de esta manera, curarlo en realidad del SIDA. La mayoría de los expertos en esta enfermedad no está convencido de esta posibilidad, sobre todo por la persistencia de células T CD4$^+$ y macrófagos infectados de manera latente, que pueden servir como reservorio de virus infecciosos en caso de activarse el provirus. Incluso cuando la carga vírica está por debajo del nivel que la PCR reconoce, el sistema inmunitario puede no recuperarse lo suficiente para eliminar el virus si éste empieza a multiplicarse en respuesta a cierta señal de activación. Por lo tanto, el virus puede persistir en sitios como el cerebro, en los que no penetran con facilidad los fármacos antirretrovíricos, incluso aunque no se identifique al virus en la sangre circulante. Está bajo estudio el uso de modulares inmunológicos, como IL-2 recombinante, en conjunto con HAART con la finalidad de reconstituir el sistema inmunitario y restaurar la función inmunitaria normal.

Además del inhibidor de la fusión enfuvirtida, recién aprobado, que actúa en la etapa de fijación del virus a la célula hospedadora, otros fármacos se encuentran en diversas etapas de desarrollo. Los de una clase promisoria interfieren en la integración del DNA vírico en el genoma del hospedador (fig. 20-14). Debe insistirse en que el desarrollo de cualquier medicamento que pueda prescribirse es un procedimiento prolongado y laborioso. Los que pasan las pruebas rigurosas de seguridad y eficacia no son más que una pequeña fracción de los que reciben atención inicial.

Es posible que una vacuna sea el único medio para detener la epidemia de VIH/SIDA

La epidemia de SIDA persiste incontenible a pesar de los progresos de los criterios terapéuticos que se han descrito. El costo actual de la HAART (hasta 15 000 dólares al año), la observancia estricta que se requiere y la posibilidad de efectos adversos impiden su aplicación universal. Incluso si se hace posible la erradicación del virus en los individuos que reciben el tratamiento combinado, no influirá en gran medida en la epidemia de los países en desarrollo, en los que se encuentra la mayoría de las víctimas del SIDA. Es probable que se desarrollen fármacos eficaces, económicos y bien tolerados en el futuro, pero en la actualidad parece que la mejor alternativa para detener la diseminación del SIDA es una vacuna segura y eficaz que prevenga la infección y el avance de la enfermedad. ¿Por qué no se cuenta aún con una vacuna contra el SIDA? La mejor respuesta a esta pregunta se encuentra al examinar las condiciones especiales que deben enfrentarse para desarrollar una vacuna segura y eficaz (cuadro 20-6).

Las vacunas más eficaces imitan el estado de infección natural. Quienes se recuperan de la mayor parte de las enfermedades infecciosas se vuelven inmunes contra los ataques subsecuentes. La infección por el VIH-1 y el avance del síndrome de inmunodeficiencia ocurren incluso en presencia de anticuerpos circulantes dirigidos contra las proteínas del virus. La inmunidad puede frenar el virus durante cierto tiempo pero, como se mencionó con anterioridad, pocas veces lo hace por más de 12 años en personas infectadas por VIH-1 no tratadas. En un subgrupo reducido de individuos infectados, que se han denominado casos sin avance de la enfermedad a largo plazo, el período de infección sin enfermedad es más prolongado e incluso indefinido. Los de otro grupo en que parece funcionar la inmunidad son los expuestos de manera persistente pero que se mantienen seronegativos. En esta categoría se encuentran porcentajes bajos de personas que comercian con el sexo en regiones de infección muy endémica, como Nairobi, que no han quedado infectadas a pesar de exposiciones diarias múltiples a quienes experimentan la infección. Como no está claro ni es sostenido el estado de inmunidad en los sujetos de esta clase (no se conocen ni los anticuerpos que tienen ni el tipo de inmunidad celular que se encuentra activo), es difícil duplicar el cuadro

CUADRO 20-6 Por qué el SIDA no se ajusta al paradigma para el desarrollo de las vacunas comunes

Las vacunas comunes imitan la inmunidad natural contra la reinfección que se observa en individuos que se han recuperado de dicho proceso infeccioso; no existen pacientes de SIDA recuperados.

La mayor parte de las vacunas protege contra enfermedades y no contra la infección; la infección por VIH puede permanecer latente durante períodos prolongados antes de causar SIDA.

La mayor parte de las vacunas protege durante años contra virus que cambian muy poco con el paso del tiempo; el VIH-1 efectúa mutaciones con rapidez y experimenta selección eficiente de formas mutantes que evaden la inmunidad.

Casi todas las vacunas eficaces son de microorganismos muertos completos o vivos atenuados; el VIH-1 muerto no conserva la antigenicidad y el empleo de una vacuna de retrovirus vivo plantea dudas sobre su seguridad.

La mayor parte de las vacunas protege contra infecciones que se encuentran con poca frecuencia; pueden contraer el VIH individuos de alto riesgo todos los días.

La mayor parte de la vacunas protege contra infecciones que penetran por las superficies mucosas de las vías respiratorias y digestivas; la gran mayoría de las infecciones por el VIH ocurre por las vías genitales.

La mayor parte de las vacunas se somete a prueba en cuanto a seguridad y eficacia en un modelo animal antes de los estudios con voluntarios humanos; en la actualidad no se cuenta con un modelo animal adecuado para el estudio de VIH/SIDA.

FUENTE: Adaptado de A. S. Fauci, 1996, An HIV vaccine: breaking the paradigms, *Proceedings of the Association of American Physicians* **108**:6.

para el desarrollo de una vacuna. Algunos de los sujetos que no sufren el avance de la enfermedad a largo plazo y otros individuos expuestos y no infectados tienen mutaciones y deleciones de los genes que codifican los correceptores celulares que frenan el avance del ataque vírico contra su sistema inmunitario, en vez de producir una inmunorreacción que mantiene bajo control la multiplicación del VIH.

La mayor parte de las vacunas previene las enfermedades, no las infecciones. Las vacunas contra la poliomielitis y la gripe conservan bajo control los virus que se producen en las células infectadas, de modo que no dañen al hospedador hasta su eliminación del cuerpo. El VIH-1 no se ajusta a este modelo, ya que se integra en el genoma del hospedador y puede conservarse latente durante períodos prolongados. Como se describió antes en el contexto de las medidas terapéuticas, la erradicación de un retrovirus no es un asunto sencillo. Una finalidad difícil para cualquier vacuna es la erradicación de un retrovirus; es necesario que el hospedador se deshaga de todas las copias del virus y de cada célula infectada, incluso las que lo están de manera latente. Sin embargo, aun sin erradicación completa la vacuna contra el VIH puede beneficiar al individuo infectado; más aún, una vacuna que produjera una carga vírica disminuida sería de utilidad para controlar la diseminación de este proceso infeccioso. En un estudio reciente efectuado en Uganda con parejas sexuales que no coincidían en el estado infeccioso se demostró que la carga vírica baja en el participante infectado inhibía la diseminación del virus hacia el que no lo estaba.

La mayor parte de las vacunas previene las infecciones por virus que manifiestan pocas variaciones. La inestabilidad de su genoma distingue al VIH-1 de la mayor parte de los virus para los que se han desarrollado vacunas eficaces. Con la excepción de la gripe, para la que deben cambiarse de manera periódica las vacunas, casi todos los virus que pueden controlarse mediante inmunización manifiestan sólo una variabilidad menor de su estructura. Para establecer una comparación considérese que los rinovirus que producen el resfriado común tienen más de 100 subtipos; por este motivo, no ha podido desarrollarse una vacuna eficaz. El VIH-1 posee variaciones en la mayor parte de sus antígenos víricos y su tasa de multiplicación puede ser de 10^9 virus al día. Esta variabilidad, en conjunto con la tasa elevada de multiplicación, permite que se produzcan virus con mutaciones múltiples; algunos de ellos escapan a la inmunidad. El reconocimiento de diferencias relevantes en las secuencias de proteínas de la cubierta vírica en los virus aislados de un mismo paciente en diferentes momentos indica que ocurren variaciones y que algunas de las variantes se multiplican, al parecer porque evaden las defensas inmunitarias del hospedador. Los datos que demuestran que el anticuerpo de los sujetos con SIDA avanzado no neutraliza los virus aislados de esos pacientes, pero que mata a otras cepas de VIH-1, se inclinan en favor de que este virus elude el sistema inmunitario mediante mutación de las proteínas contra las que está dirigido el anticuerpo.

La mayor parte de las vacunas que han tenido buenos resultados se elabora con microorganismos vivos atenuados o muertos con calor. Aunque existen excepciones a lo anterior, en particular en el caso de la proteína recombinante utilizada para crear la vacuna contra la hepatitis B y los conjugados usados para producir la de *Haemophilus influenzae* B (cap. 18), casi todas las vacunas empleadas con amplitud son de microorganismos atenuados. Una posibilidad es el desarrollo de una vacuna de retrovirus vivos atenuados, derivados de virus de animales sometidos a procedimientos de ingeniería genética, para incluir antígenos del VIH. Sin embargo, el uso de vacunas de virus vivos se basa en la suposición de que la inmunidad desencadenada elimina del hospedador el virus de interés. Esto no es fácil en el caso de un retrovirus, que se integra en el genoma del hospedador. Es necesario un esfuerzo de investigación intensivo para garantizar que una vacuna de retrovirus vivos sea segura y no cause infección crónica del hospedador. En el aspecto positivo de este razonamiento, los estudios clínicos efectuados con otros virus, como el de la viruela bovina o el de la viruela de los canarios atenuados como portadores de genes que codifican proteínas del VIH, han pasado de las pruebas de fase I (de seguridad) a las de fase II (de eficacia).

En el caso de la mayor parte de los virus, la frecuencia de la exposición a la infección es rara o estacional. Muchos individuos de alto riesgo, por ejemplo quienes se dedican al comercio sexual, los compañeros sexuales monógamos de sujetos infectados por VIH y los usuarios de drogas intravenosas, se enfrentan al virus con frecuencia y, tal vez, en grandes dosis. Es por ese motivo que se requiere una vacuna contra el SIDA a fin de prevenir la infección por el ataque constante del virus y sus dosis masivas; éste no es, en condiciones normales, el caso de otros virus contra los que han tenido buenos resultados las inmunizaciones.

La mayor parte de las vacunas protege contra infecciones respiratorias o digestivas. Además de la frecuencia de exposición al VIH, que puede ser en extremo elevada en algunas personas de alto riesgo, se encuentra también el asunto de la vía de inoculación. La mayoría de las vacunas que han tenido buenos resultados protege contra virus que se hallan en las vías respiratorias y digestivas; la vía más frecuente de inoculación del VIH-1 es la genital. No se sabe si la inmunidad establecida por los procedimientos ordinarios de vacunación protege a las personas contra la infección por esta vía. Aunque la carencia de un modelo animal del todo confiable impide la investigación profunda de la protección, los estudios de vacunación preliminares en los que se inocula por la vía rectal o vaginal a primates inmunizados con virus quiméricos VIH-VIS (SVIH) indican protección en estos casos.

El desarrollo de la mayor parte de las vacunas mediante pruebas clínicas se basa en experimentos efectuados con animales. En circunstancias habituales, someter a prueba la seguridad y la eficacia de una vacuna supone aplicar una carga del microorganismo en el animal bajo condiciones semejantes a las que prevalecen en el ser humano. De esta manera se establecen los aspectos correlativos de la inmunidad protectora. Por ejemplo, si se requieren títulos elevados de células T CD8$^+$ y anticuerpo neutralizante para lograr protección en un animal, es necesario medir la inmunidad de células T CD8$^+$ y el anticuerpo en estudios humanos de la vacuna. Hasta ahora, los estudios de la infección por VIH y la enfermedad en animales han ofrecido sólo unos cuantos hechos difíciles sobre las reacciones inmunitarias que son protectoras contra la infección o que previenen el avance de la enfermedad. Muchos resultados se refieren a virus específicos en un hospedador en particular y no pueden extrapolarse con facilidad a conceptos universales porque dependen de factores del hospedador al igual que de relaciones entre las cepas de virus inmunizantes y de carga. No obstante, los experimentos han demostrado que la inmunización pasiva con anticuerpos tomados de chimpancés infectados con el VIH protege a macacos contra las cargas de cepas de SVIH portadoras de la glucoproteína de cubierta del VIH. Ofrecen más indicaciones de que los anticuerpos pueden prevenir la infección los estudios en que anticuerpos monoclonales protegieron a macacos contra la carga vaginal de SVIH. En todos los casos era necesario que estuvieran presentes los anticuerpos en el momento de la inoculación. Los anticuerpos aplicados al animal después de ésta carecieron de eficacia para prevenir la infección.

Si bien no se han publicado informes de buenos resultados en los estudios de la vacuna contra el VIH en el ser humano, es aún muy activa la investigación en este difícil campo. A pesar de un esfuerzo masivo, el avance sigue siendo lento. Numerosos productos se encuentran en las primeras fases de prueba con voluntarios. Unas 30 proteínas, vacunas de DNA y virus recombinantes están en ensayos de fase I para seguridad e inmunogenicidad, y alrededor de cinco vacunas candidatas han avanzado a la fase II, con mayores poblaciones y, en algunos casos, voluntarios de alto riesgo. La magnitud de la tarea de llevar una vacuna potencial a los ensayos de fase III se refleja en la evaluación de un ensayo reciente de este tipo para dos vacunas subunitarias. Las pruebas se realizaron luego de 20 años de investigación y desarrollo a un costo aproximado de 300 millones de dólares; participaron 78 clínicas en cuatro países, con 135 371 visitas de pacientes; se tamizó a 12 114 personas y se reclutó a 7 963 voluntarios; y el estudio se registró en 1 286 279 formularios de informe de casos. Aunque no se observó que los individuos vacunados recibieran protección, algunos consideraron que las pruebas eran una demostración de que es posible emprender y coordinar un esfuerzo tan grande, y que las lecciones aprendidas permitirán realizar ensayos exitosos con productos promisorios.

Además de delinear un razonamiento científico, los aspectos conductuales y sociales influyen en el desarrollo y las pruebas de las vacunas candidatas contra el SIDA. La orientación sobre actividad sexual segura debe ser parte del cuidado prestado a los voluntarios que participan en el estudio de una vacuna. ¿Influirá este criterio en los resultados? ¿Un decremento en la tasa de infección de todos los grupos participantes en el estudio impedirá observar una diferencia significativa en esta tasa entre los grupos de vacuna y de placebo? Una consideración ulterior es el hecho de que cualquier persona que se inmuniza contra el virus del SIDA se torna seropositiva y expresa esta positividad en los estudios ordinarios de investigación de esta enfermedad infecciosa. ¿Qué implicaciones tendrá lo anterior? ¿Se requerirán pruebas de carga vírica más complejas para determinar si un individuo inmunizado está infectado en realidad?

Está claro que el desarrollo de una vacuna contra el SIDA no es un ejercicio simple de la vacunología común. Es necesario investigar más a fondo en este campo para comprender la manera en que puede evitarse el ataque vírico contra el sistema inmunitario. Aunque es mucho lo que se ha escrito sobre este tema y se han propuesto iniciativas de gran escala, no está claro aún el camino hacia el logro de una vacuna eficaz. Lo único definitivo es que deben analizarse con mucho cuidado todos los datos y someterse a prueba todos los medios posibles para crear inmunidad. Éste es uno de los más grandes desafíos para la salud pública en estos tiempos. Debe ponerse en práctica un esfuerzo intenso y en colaboración para diseñar, probar y administrar una vacuna segura y eficaz contra el SIDA.

RESUMEN

- La inmunodeficiencia es resultado de la falla de uno o más componentes del sistema inmunitario. Las inmunodeficiencias primarias se manifiestan al nacer y las secundarias o adquiridas tienen diversas causas.
- Las inmunodeficiencias pueden clasificarse con base en los tipos de células participantes, y afectan el linaje linfoide, el mieloide o ambos.
- Los defectos génicos subyacentes a la inmunodeficiencia primaria permiten la clasificación precisa. En muchas inmunodeficiencias se encuentran defectos genéticos de las moléculas que participan en la transducción de señales o la comunicación celular.
- Las inmunodeficiencias linfoides afectan células T, B, NK o alguna combinación de ellas. La falta de desarrollo del timo tiene como consecuencia inmunodeficiencia grave que puede obstaculizar el desarrollo normal de las células B a causa de falta de cooperación celular.

- La inmunodeficiencia mieloide trastorna la función fagocítica. Quienes están afectados manifiestan mayor susceptibilidad a las infecciones bacterianas.
- La inmunodeficiencia combinada grave, o SCID, puede ser el resultado de diversos defectos del linaje linfoide y suele ser letal.
- Las deficiencias selectivas de inmunoglobulina son una forma menos grave de inmunodeficiencia y resultan de defectos de tipos de células más diferenciadas.
- La inmunodeficiencia se puede tratar mediante reemplazo de las proteínas, las células o los genes defectuosos o faltantes. Un tratamiento frecuente es la administración de inmunoglobulina humana.
- Los modelos animales para estudiar la inmunodeficiencia son el ratón desnudo y el ratón SCID. Los ratones con desactivación génica son de utilidad para estudiar la función de genes específicos en la inmunidad.
- La inmunodeficiencia secundaria es resultado de lesiones o infecciones; la forma más frecuente es el padecimiento por VIH/SIDA causado por un retrovirus, el virus 1 de la inmunodeficiencia humana.
- La infección por VIH-1 se disemina sobre todo por contacto sexual, contacto con sangre o transfusión de ésta y transmisión desde la madre infectada por el VIH hacia el feto.
- La infección por el VIH-1 tiene como resultado trastorno grave de la función inmunitaria caracterizado por agotamiento de las células T CD4$^+$ y muerte por infección oportunista, por lo general dentro de los 10 años que siguen a la infección.
- El tratamiento de la infección por VIH con fármacos antirretrovíricos puede disminuir la carga vírica y aliviar el proceso, pero estos efectos son temporales y no se ha comprobado caso alguno de curación.
- Los esfuerzos por desarrollar una vacuna para VIH/SIDA han resultado infructuosos hasta ahora. Los millones de nuevas infecciones ocurridas en 2005 ponen de relieve la necesidad de contar con una vacuna eficaz.

Bibliografía

Brenchley, J. M., et al. 2004. CD4$^+$ T cell depletion during all stages of HIV disease occurs predominantly in the gastrointestinal tract. *Journal of Experimental Medicine* **200:**749.

Buckley, R. H. 2004. Molecular defects in human severe combined immunodeficiency and approaches to immune reconstitution. *Annual Review of Immunology* **22:**625.

Calvazzano-Calvo, M., et al. 2005. Gene therapy for severe combined immunodeficiency. *Annual Review of Medicine* **56:**585.

Carpenter, C. J., et al. 2000. Antiretroviral therapy in adults: updated recommendations of the International AID Society—USA Panel. *Journal of the American Medical Association* **283:**381.

Cohen, O. J., and A. S. Fauci. 2001. Current strategies in the treatment of HIV infection. *Advances in Internal Medicine* **46:**207.

Fauci, A. S. 2003. HIV and AIDS: 20 years of science. *Nature Medicine* **9:**839.

Francis, D. P. 2003. Candidate HIV/AIDS vaccines: lessons learned from the world's first phase III efficacy trials. *AIDS* **17:**147.

Jackson, J. B., et al. 2003. Intrapartum and neonatal single-dose nevirapine compared to zidovudine for prevention of mother-to-child transmission of HIV-1 in Kampala, Uganda: 18-month follow-up of the HIVNET 012 randomized trial. *Lancet* **362:**859.

Kinter, A., et al. 2000. Chemokines, cytokines, and HIV: a complex network of interactions that influence HIV pathogenesis. *Immunological Reviews* **177:**88.

Kohn, D. B. 2001. Gene therapy for genetic haematological disorders and immunodeficiences. *Journal of Internal Medicine* **249:**379.

Letvin, N. L. 2005. Progress toward an HIV vaccine. *Annual Review of Medicine* **56:**213.

Li, O., et al. 2004. Functional genomic analysis of the response of HIV-1-infected lymphatic tissue to antiretroviral therapy. *Journal of Infectious Disease* **189:**572.

Moir, S., et al. 2001. HIV-1 induces phenotypic and functional perturbations of B cells in chronically infected individuals. *Proceedings of the National Academy of Sciences U.S.A.* **98:**10362.

Moore, J. P., et al. 2004. The CCR5 and CXCR4 coreceptors—central to understanding the transmission and pathogenesis of human immunodeficiency virus type I infection. *AIDS Research and Human Retroviruses* **20:**111.

Reynolds, S. J., et al. 2004. Male circumcision and risk of HIV-1 and sexually transmitted infections in India. *Lancet* **363:**1039.

Rosenzweig, S. D., and S. M. Holland. 2005. Defects in the interferon-γ and interleukin-12 pathways. *Immunological Reviews* **203:**38.

Stebbing, J., B. Gazzard, and D. C. Douek. 2004. Where does HIV live? *New England Journal of Medicine* **350:**1872.

Sitios útiles de la red

http://www.scid.net/

La página web SCID contiene referencias a publicaciones periódicas y bases de datos con información sobre la inmunodeficiencia combinada grave.

http://hivinsite.ucsf.edu/

En esta página se halla un acceso a información sobre la epidemia global del SIDA.

http://hiv-web.lanl.gov/

Página web de Los Alamos National Laboratories que contiene todos los datos disponibles sobre las secuencias de VIH y VIS así como revisiones actualizadas sobre temas de interés en la investigación del SIDA.

ftp://nlmpubs.nlm.nih.gov/aids/adatabases/drugs.txt

Este sitio de la National Library of Medicine presenta información detallada sobre cientos de fármacos bajo desarrollo para tratar la infección por VIH y las infecciones oportunistas que acompañan al SIDA.

http://www.niaid.nih.gov/daids/vaccine/abtvaccines.htm

Sitio del National Institute of Allergy and Infectious Diseases (NIAID) que incluye información sobre las vacunas contra el SIDA y referencias a documentos sobre vacunas en general.

Preguntas de estudio

PREGUNTA DE ENFOQUE CLÍNICO La diseminación del VIH/SIDA de las madres infectadas a sus hijos se puede reducir mediante regímenes de dosis únicas del inhibidor de la inversotranscriptasa nevirapina. ¿Qué desearía usted saber antes de administrar este fármaco a todas las madres y sus hijos (sin verificar el estado de la infección) en el momento del parto en las regiones de alta endemicidad?

1. Indique si cada una de las afirmaciones siguientes es verdadera o falsa. Si cree que una afirmación es falsa, explique por qué.

   a. El síndrome de DiGeorge es un defecto congénito que consiste en la ausencia del timo.
   b. La agammaglobulinemia ligada al sexo (X-LA) es una enfermedad de inmunodeficiencia de células B y T combinada.
   c. La piedra angular de la deficiencia fagocítica es el aumento de la susceptibilidad a las infecciones víricas.
   d. En la enfermedad granulomatosa crónica, el defecto subyacente se encuentra en un citocromo o una proteína relacionada.
   e. Se usan inyecciones de inmunoglobulinas para tratar a individuos que experimentan agammaglobulinemia ligada al sexo.
   f. Se han identificado defectos múltiples en la SCID humana.
   g. Los ratones con el defecto SCID carecen de linfocitos B y T funcionales.
   h. Se pueden producir ratones con fenotipo parecido al SCID si se les suprimen los genes *RAG*.
   i. Los niños nacidos con SCID experimentan a menudo aumento de las infecciones por bacterias encapsuladas durante los primeros meses de vida.
   j. La falta de expresión de moléculas MHC clase II en el síndrome de linfocitos desnudos afecta sólo la inmunidad mediada por células.

2. Para cada uno de los siguientes trastornos de inmunodeficiencia, indique cuál tratamiento sería apropiado.

   Inmunodeficiencia

   a. Enfermedad granulomatosa crónica
   d. SCID con deficiencia de ADA
   c. Agammaglobulinemia ligada al sexo
   d. Síndrome de DiGeorge
   e. SCID con deficiencia de IL-2R
   f. Inmunodeficiencia variable común

   Tratamiento

   1. Trasplante de médula ósea completa
   2. Gammaglobulina humana de fondo común
   3. IFN-γ recombinante
   4. Adenosindesaminasa recombinante
   5. Trasplante de timo en un lactante

3. Los pacientes con síndrome de hiper-IgM ligado al sexo expresan genes normales para otros subtipos de anticuerpo pero no producen IgG, IgA ni IgE. Explique cómo es que el defecto en este síndrome da cuenta de la ausencia de otros isotipos de anticuerpo.

4. Los pacientes con síndrome de DiGeorge nacen sin timo o con uno gravemente disfuncional. Por ello, el sujeto no puede producir células T colaboradoras, citotóxicas ni reguladoras maduras. Si un adulto queda sin timo por accidente o lesión, la deficiencia de células T es mucho menos grave. Explique este fenómeno.

5. Los granulocitos de pacientes con deficiencia de la adhesión leucocítica (LAD) expresan cantidades muy reducidas de tres moléculas de integrina llamadas CR3, CR4 y LFA-1.

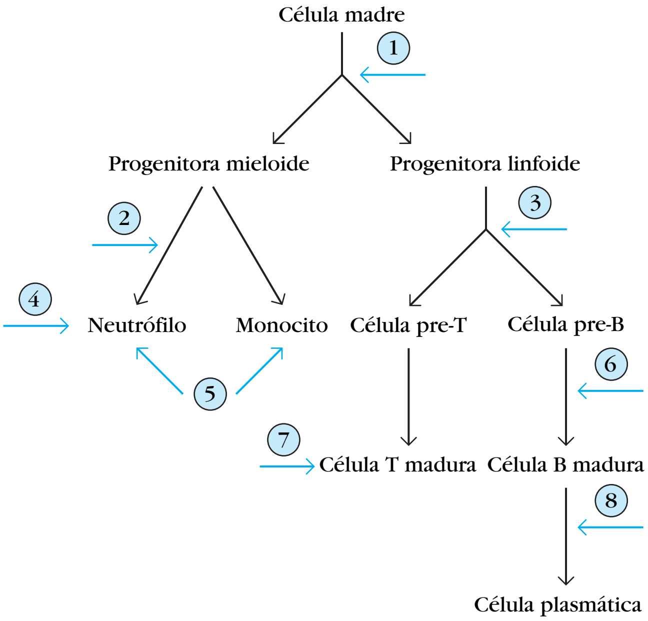
   a. ¿Cuál es la naturaleza del defecto que ocasiona expresión disminuida o nula de estos receptores en los sujetos con LAD?
   b. ¿Cuál es la función normal de la molécula de integrina LFA-1? Dé ejemplos específicos.

6. Los inmunólogos han estudiado el defecto de los ratones con SCID en un esfuerzo por comprender las bases moleculares de la inmunodeficiencia combinada grave del ser humano. En los ratones y los seres humanos que padecen este trastorno no se desarrollan células B ni T.

   a. ¿En qué difieren los genes de cadena pesada de Ig reordenados entre los ratones SCID y los normales?
   b. En ratones SCID no se intenta el reordenamiento del DNA de la cadena ligera κ. Explique por qué.
   c. Si se introduce un gen de cadena pesada μ funcional reordenado en las células B progenitoras de ratones con SCID, ¿experimentaría la cadena ligera κ un reordenamiento normal? Explique su respuesta.

7. La figura acompañante ilustra algunas de las etapas del desarrollo de las células del sistema inmunitario. Las flechas numeradas indican el tipo de célula cuya función es defectuosa o la etapa del desarrollo que no ocurre en enfermedades de inmunodeficiencia específicas. Identifique el tipo de célula defectuosa o la etapa del desarrollo relacionados con cada una de las enfermedades que siguen. Emplee cada número sólo una vez.

   a. Enfermedad granulomatosa crónica
   b. Inmunodeficiencia combinada grave (SCID)
   c. Agranulocitosis congénita
   d. Disgenesia reticular
   e. Hipogammaglobulinemia variable común



   f. Agammaglobulinemia ligada al sexo
   g. Deficiencia de la adhesión leucocítica (LAD)
   h. Síndrome de linfocitos desnudos

8. Indique si cada una de las afirmaciones siguientes es verdadera o falsa. Si cree que una afirmación es falsa, explique por qué.
   a. VIH-1 y VIH-2 están relacionados de forma más estrecha entre sí que con el VIS.
   b. El VIH-1 produce inmunosupresión en seres humanos y chimpancés.
   c. El VIS es endémico en el mono verde africano.
   d. Los fármacos contra el VIH zidovudina e indinavir actúan sobre el mismo punto del ciclo de multiplicación vírica.
   e. La activación de las células T incrementa la transcripción del genoma provírico del VIH.
   f. Las personas con etapas avanzadas del SIDA tienen siempre anticuerpo contra el VIH perceptible.
   g. La reacción en cadena de la polimerasa es una prueba sensible que se emplea para detectar anticuerpos contra el VIH.
   h. Si la HAART es exitosa, la carga vírica disminuye.

9. Se han propuesto diversos mecanismos para explicar la disminución de células T $CD4^+$ en los individuos infectados por el VIH. ¿Cuál parece ser el motivo más probable de esa disminución?

10. ¿Esperaría usted que variara la carga vírica en la sangre de los sujetos infectados por VIH-1 durante la fase crónica de la infección?

11. Si la carga vírica empieza a incrementarse en la sangre de un sujeto infectado por VIH-1 y la concentración de células T $CD4^+$ disminuye, ¿qué indicaría esto acerca de la infección?

12. ¿Por qué los clínicos vigilan la reactividad de la prueba cutánea en individuos infectados por el VIH? ¿Qué cambio se esperaría ver en la reactividad de la prueba cutánea con el avance hasta SIDA?

13. Se ha demostrado que ciertas quimiocinas suprimen la infección de las células por el VIH y que las citocinas proinflamatorias incrementan la infección celular. ¿Cuál es la explicación de esto?

14. El tratamiento con combinaciones de fármacos anti-VIH (HAART) ha reducido las concentraciones de virus en grado considerable en algunos pacientes y retrasado en ellos el inicio del SIDA. Si un enfermo con SIDA queda libre de infecciones oportunistas y no tiene virus perceptibles en la sangre circulante, ¿podría considerarse curado?

15. Suponga que es usted un médico que tiene dos pacientes infectados con VIH. El individuo B. W. sufre una infección micótica (candidosis) en la boca y el sujeto L. S. tiene una infección por micobacterias. Las cifras de células T $CD4^+$ de ambas personas se aproximan a $250/mm^3$. Diagnosticaría que alguno de los pacientes o ambos son casos de SIDA?

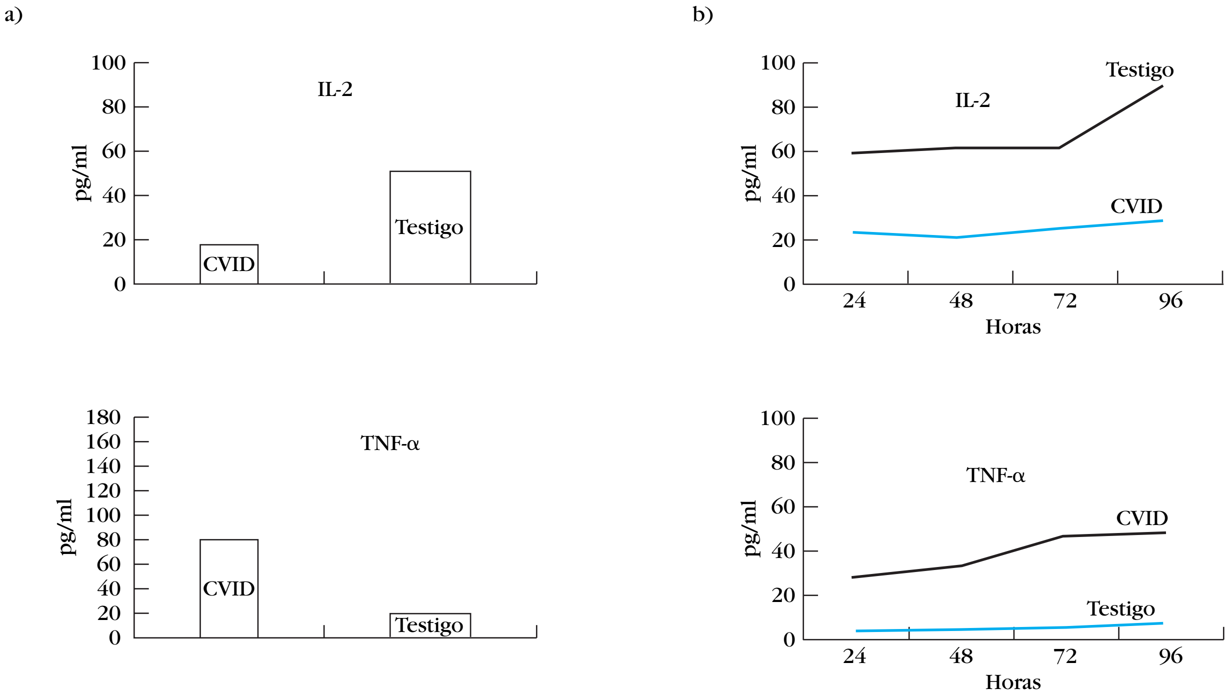
ANALICE LOS DATOS La inmunodeficiencia variable común (CVID) da por resultado concentraciones bajas de Ig séricas e infecciones bacterianas frecuentes de vías respiratorias y digestivas. Además, las personas con CVID tienen mayor prevalencia de trastornos autoinmunitarios y cáncer. Isgro y colaboradores (*J. Immunol.* 2005, **174:**5074) examinaron la médula ósea de varios individuos con CVID. Observaron los fenotipos de las células T de pacientes con CVID (como se muestra en el cuadro de abajo) y algunas de las citocinas producidas por estos individuos (véanse las figuras a y b de la pág. 524).

   a. ¿Cuál es el efecto de la CVID en las células T colaboradoras?
   b. Para su activación, los CTL vírgenes requieren de IL-2 producida por las células T colaboradoras (cap. 14). ¿Cómo podría la CVID influir en la generación de CTL?
   c. Verdadero o falso: La CVID inhibe la producción de citocina. Explique su respuesta. Especule sobre el impacto fisiológico del patrón de citocinas en los pacientes con CVID.
   d. ¿Predeciría usted un efecto de la CVID en la inmunorreacción humoral?

Para usarse con las preguntas de la sección Analice los datos

		Pacientes										
		1	**2**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**	**11**	**CVID**	**Testigos ($n = 10$)**
$CD4^+$	%	47	36	28	28	27	19	19	32	57	34	47.5
	células/μl	296	234	278	1 652	257	361	289	248	982	351	1 024
$CD4^+$ virgen	%	4	6.8	25.8	4	11.6	7.9	14	12	2	10	52
	células/μl	12	16	72	66	30	29	40	30	20	31	519
$CD4^+$ activada	%	2	5	22	3	9	8	12	9	1.5	8	37
	células/μl	6	12	61	50	23	29	35	22	15	25	385
$CD8^+$	%	31	38	30	57	44	56	47	45	21	39	20
	células/μl	195	247	298	3 363	420	1 065	714	348	362	414	404
$CD8^+$ virgen	%	25	30	43.9	7	16.9	12.9	20	13	15	22	58
	células/μl	49	74	131	235	71	138	143	45	54	88	233

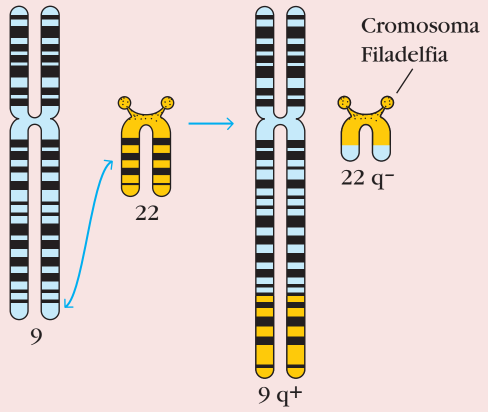
Para usarse con las preguntas de la sección Analice los datos



Producción de citocina por las células de la médula ósea en pacientes con CVID. a) Se cultivaron 1 × 10^6 células durante 24 h, y los sobrenadantes se analizaron en busca de IL-2 y TNF-α. b) Se colectaron los sobrenadantes a las 24, 48, 72 y 96 h y se sometieron a ELISA.

capítulo 21

Cáncer y sistema inmunitario



Transposición cromosómica en la leucemia mielógena crónica.

- Cáncer: origen y terminología
- Transformación maligna de células
- Oncogenes e inducción de cáncer
- Tumores del sistema inmunitario
- Antígenos tumorales
- Evasión del sistema inmunitario por los tumores
- Inmunoterapia del cáncer

A medida que ha disminuido el tributo de muertes por enfermedades infecciosas en el mundo occidental, el cáncer se ha convertido en la segunda causa principal de muerte en esa región, superada sólo por las cardiopatías. Las estimaciones actuales proyectan que una de cada tres personas en Estados Unidos desarrollará cáncer y que una de cada cinco morirá por esta causa. Desde una perspectiva inmunológica, las células cancerosas pueden considerarse como células propias alteradas que han escapado a los mecanismos normales de regulación del crecimiento. En este capítulo se examinan las propiedades únicas de las células cancerosas, con atención particular a las que el sistema inmunitario puede reconocer. A continuación se describen las reacciones inmunitarias que se desarrollan contra las células cancerosas, así como los medios por los que el cáncer elude esas reacciones. En la sección final se discuten las inmunoterapias clínicas y experimentales instituidas para el cáncer.

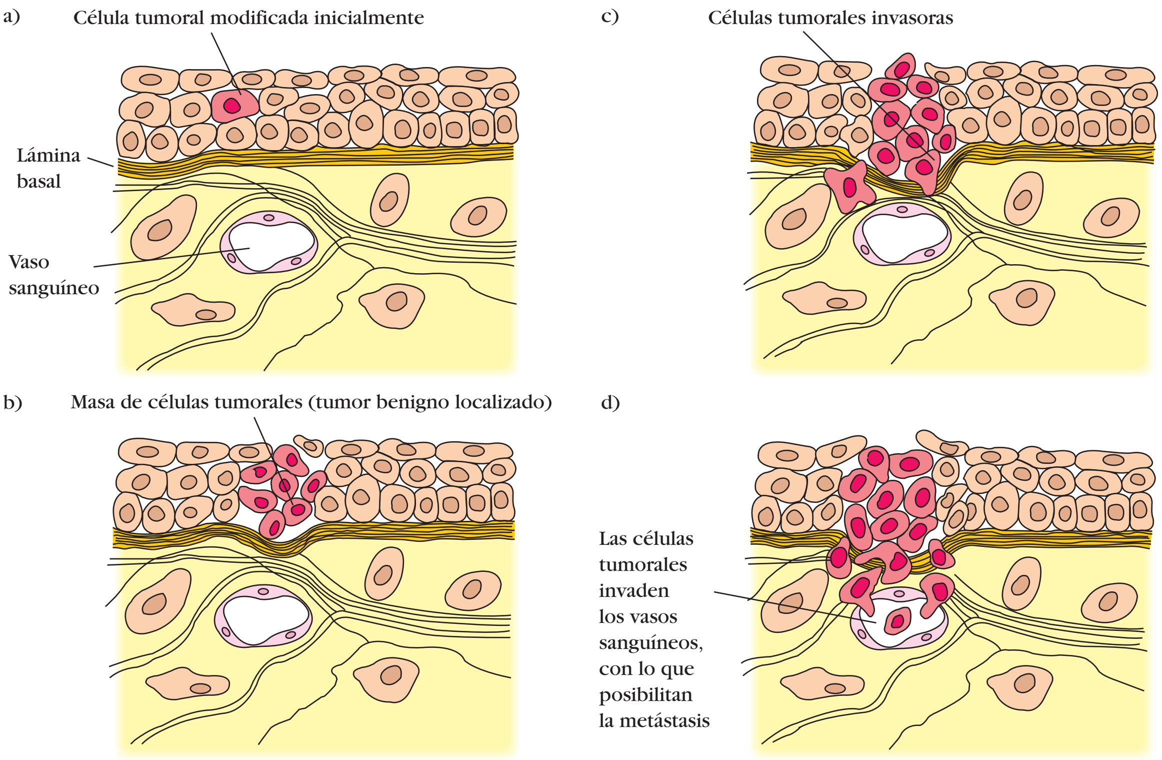
Cáncer: origen y terminología

En la mayor parte de los órganos y tejidos de un animal maduro suele conservarse un equilibrio entre la renovación y la muerte de las células. Los diversos tipos de células maduras del cuerpo tienen una vida de duración determinada; conforme mueren estas células se generan nuevas gracias a la proliferación y diferenciación de diversos tipos de células progenitoras. En circunstancias normales, la producción de nuevas células es regulada para que el número de cualquier tipo particular de éstas se conserve constante. Sin embargo, en ocasiones aparecen células que ya no están sujetas a los mecanismos normales de control del crecimiento. Estas células dan lugar a clonas que pueden alcanzar un tamaño considerable, con producción de un tumor o **neoplasia**.

El tumor que no es capaz de crecer por tiempo indefinido y que no invade los tejidos circundantes sanos se denomina **benigno**. El que prosigue su crecimiento y se vuelve invasor de forma progresiva se llama **maligno**; el término *cáncer* se refiere de manera específica a un tumor maligno. Además del crecimiento incontrolado, los tumores malignos emiten **metástasis**; en el proceso de formación de éstas, se desprenden del tumor pequeños cúmulos de células cancerosas que invaden los vasos sanguíneos o linfáticos y se transportan hacia otros tejidos, en los que no dejan de proliferar. De esta manera, un tumor primario de determinada localización puede originar uno o varios tumores secundarios en otros sitios (fig. 21-1).

Los tumores malignos o cánceres se clasifican según el origen embrionario del tejido del que se deriva la masa. En su mayor parte (> 80%) son **carcinomas**, que se originan en tejidos endodérmicos o ectodérmicos, como la piel o el revestimiento epitelial de los órganos y las glándulas internas. La mayor parte de los cánceres de colon, mama, próstata y pulmón son carcinomas. Las **leucemias** y los **linfomas** son tumores malignos de las células hematopoyéticas de la médula ósea y constituyen una proporción aproximada de 9% de la incidencia del cáncer en Estados Unidos. Las leucemias proliferan como células independientes, en tanto que los linfomas tienden a crecer como masas tumorales. Los **sarcomas**, que son malformaciones menos frecuentes (su incidencia se aproxima a 1% en Estados Unidos), se derivan de tejidos conjuntivos mesodérmicos, como hueso, grasa y cartílago.

FIGURA 21-1 PARA VISUALIZACIÓN DE CONCEPTOS: Crecimiento tumoral y metástasis


a)
Célula tumoral modificada inicialmente
Lámina basal
Vaso sanguíneo
c)
Células tumorales invasoras
b)
Masa de células tumorales (tumor benigno localizado)
d)
Las células tumorales invaden los vasos sanguíneos, con lo que posibilitan la metástasis

a) Una sola célula desarrolla propiedades alteradas del crecimiento dentro de la zona tisular en que se encuentra. b) La célula alterada prolifera y forma una masa de células tumorales localizadas, o tumor benigno. c) Las células tumorales se vuelven cada vez más invasoras y se propagan a la lámina basal subyacente. El tumor se clasifica entonces como maligno. d) El tumor maligno metastiza al generar cúmulos pequeños de células cancerosas que se desprenden y se transportan por la sangre o la linfa hacia otros sitios del cuerpo. *[Adaptada de J. Darnell et al., 1990,* Molecular cell biology, *2nd ed., Scientific American Books.]*

Transformación maligna de células

El tratamiento de células cultivadas normales con carcinógenos químicos, radiaciones y ciertos virus puede alterar su morfología y propiedades de crecimiento. En algunos casos este proceso, conocido como **transformación**, hace a las células capaces de producir tumores cuando se inyectan a diversos animales. Se dice que estas células han experimentado transformación maligna y con frecuencia manifiestan propiedades in vitro semejantes a las de las células cancerosas. Por ejemplo, tienen necesidades disminuidas de factores de crecimiento y suero, no dependen más de la fijación y crecen de una manera independiente de la densidad. Más aún, tanto las células cancerosas como las transformadas pueden subcultivarse por tiempo indefinido; esto es, para todas las finalidades prácticas, se han tornado inmortales. Gracias a las propiedades similares de las células cancerosas y las transformadas, se ha podido estudiar de manera extensa el proceso de la transformación maligna como modelo de inducción del cáncer.

Se ha demostrado que inducen transformación celular diversos agentes químicos (p. ej., reactivos alquilantes del DNA) y físicos (p. ej., luz ultravioleta y radiaciones ionizantes) que producen mutaciones. La inducción de la transformación maligna con carcinógenos químicos o físicos parece abarcar etapas múltiples y por lo menos dos fases diferentes: inicio y promoción. El inicio abarca cambios del genoma pero no produce, por sí mismo, transformación maligna. Después del inicio, diversos promotores estimulan la división celular y producen esta transformación.

Ilustran la importancia de la mutagénesis en la inducción del cáncer ciertas enfermedades como la xerodermia pigmentosa. Este raro trastorno se debe a un defecto del gen que codifica una enzima de reparación del DNA, denominada endonucleasa específica de radiación UV. Las personas con esta enfermedad no pueden reparar las mutaciones inducidas por esta radiación y, como consecuencia, desarrollan cánceres cutáneos.

Determinados virus se han vinculado con cáncer tanto en animales de experimentación como en seres humanos. El SV40 y el virus del polioma se estudian desde hace tiempo en sistemas animales, y se sabe mucho acerca del papel de proteínas víricas que inducen transformación. En ambos casos el DNA de los genomas víricos se integra al azar en el DNA cromosómico del hospedador, incluyendo varios genes que se expresan al principio de la multiplicación vírica. El SV40 codifica dos proteínas tempranas, llamadas T grande y T pequeña, y el virus del polioma codifica tres proteínas tempranas conocidas como T grande, T intermedia y T pequeña. Cada una de estas proteínas interviene en la transformación maligna de las células infectadas por virus.

Entre los cánceres del ser humano con vínculos bien establecidos con infección vírica se incluyen

- Leucemia o linfoma de células T del adulto, que ocurren en un pequeño porcentaje de personas infectadas por virus 1 de la leucemia (o linfotrópico) de células T del ser humano (HTLV-1)
- Sarcoma de Kaposi, que está vinculado con el virus 8 del herpes del ser humano (HHV-8) y suele presentarse en quienes también están infectados por VIH-1
- Carcinoma de cuello uterino, que se relaciona con infección por uno de varios serotipos de virus del papiloma humano (HPV); en el enfoque clínico se considera una vacuna para HPV
- Carcinoma hepático después de infección por virus de la hepatitis B (HBV)
- Infección por el virus de Epstein-Barr (EBV), que se vincula con linfoma de Burkitt en poblaciones africanas y con carcinoma nasofaríngeo principalmente en poblaciones asiáticas

De estos virus relacionados con cáncer del ser humano, EBV, HBV y HPV son virus de DNA, al igual que el SV40 y el virus del polioma. HTLV-1 y HHV-8 son virus de RNA. La mayoría de los virus de RNA se multiplica en el citosol y no inducen transformación maligna. Las excepciones son los retrovirus, que transcriben su RNA en DNA por medio de una enzima inversotranscriptasa y luego integran el transcrito en el DNA del hospedador. Este ciclo de multiplicación es semejante al de los retrovirus citopáticos como HIV-1 y HIV-2 y al de los retrovirus transformadores, como HTLV-1, que inducen cambios en las células del hospedador que culminan en transformación maligna. En algunos casos, la transformación inducida por retrovirus se relaciona con la presencia en el genoma vírico de **oncogenes**, o "genes de cáncer".

Uno de los retrovirus transformadores mejor estudiados es el **virus del sarcoma de Rous**. Este virus tiene un oncogén denominado v-*src,* que codifica una cinasa de proteína de 60 kDa (v-Src) que cataliza la adición de fosfato a los residuos tirosina en las proteínas. La primera prueba de que los oncogenes pueden inducir por sí solos transformación maligna provino de estudios sobre el oncogén v-*src* del virus del sarcoma de Rous. Cuando se clonó y transfectó este oncogén en células normales en cultivo, éstas experimentaron transformación maligna.

Oncogenes e inducción de cáncer

En 1971, Howard Temin sugirió que los oncogenes podrían no ser únicos de los virus transformadores, sino que podrían encontrarse también en las células normales; de hecho, propuso que un virus podría adquirir los oncogenes del genoma de una célula infectada. Denominó a estos genes celulares **protooncogenes,** u **oncogenes celulares** (c-*onc*), para distinguirlos de sus contrapartes víricas (v-*onc*). A mediados de decenio de 1970, J. M. Bishop y H. E. Varmus identificaron una secuencia de DNA en células normales de pollo que es homóloga del v-*src* del virus del sarcoma de Rous. Este oncogén celular se denominó c-*src*. Desde estos primeros descubrimientos se han identificado numerosos oncogenes celulares.

Comparaciones de las secuencias de los oncogenes víricos y celulares revelan que están muy conservados en la evolución. Aunque la mayor parte de los oncogenes celulares se constituye con una serie de exones e intrones, sus contrapartes víricos consisten en secuencias de codificación ininterrumpidas, que sugieren que el virus pudo adquirir el oncogén a través de un transcrito intermedio de RNA del que se han retirado las secuencias de intrones durante el procesamiento del RNA. Las secuencias reales de codificación de los oncogenes víricos y sus protooncogenes correspondientes manifiestan un grado elevado de homología; en algunos casos una sola mutación de punto es todo lo que distingue a un oncogén vírico del protooncogén correspondiente. En la actualidad se ha puesto en claro que la mayor parte de los oncogenes (víricos y celulares), si no es que todos ellos, se deriva de genes celulares que codifican diversas proteínas controladoras del crecimiento. Por consiguiente, la proteína codificada por un oncogén en particular y la producida por su protooncogén correspondiente parecen tener funciones muy similares. Como se describe más adelante, en muchos casos la conversión de un protooncogén en oncogén parece acompañar a un cambio en el nivel de expresión por una proteína normal controladora del crecimiento.

Los genes relacionados con el cáncer tienen muchas funciones

En el tejido normal la homeostasis se conserva por un proceso muy regulado de la proliferación celular equilibrada por la muerte celular. Si sobreviene un desequilibrio, ya sea en la etapa de proliferación celular o en la de muerte de las células, se desarrolla un estado canceroso. Se ha demostrado que los oncogenes y los genes supresores tumorales desempeñan un papel relevante en este proceso al regular la proliferación o la muerte celulares. Los genes vinculados con el cáncer se pueden clasificar en tres categorías que reflejan estas actividades diferentes y que se resumen en el cuadro 21-1.

Inducción de la proliferación celular

Los protooncogenes de una categoría y sus contrapartes oncogénicas codifican proteínas que inducen la proliferación celular. Algunas de estas proteínas funcionan como factores de crecimiento o receptores de estos factores. Entre ellos se encuentran *sis*, que codifica una forma de factor de crecimiento derivado de plaquetas, y *fms, erbB* y *neu*, que codifican receptores de los factores de crecimiento. En las células normales, la expresión de los factores de crecimiento y sus receptores es regulada de manera muy precisa. Por lo general, las células de una población secretan un factor de crecimiento que actúa sobre las de otra población portadoras del receptor para ese factor, con lo que estimulan la proliferación de las células de este segundo grupo. La expresión inapropiada de un factor de crecimiento o su receptor puede ocasionar proliferación descontrolada.

CUADRO 21-1 Clasificación funcional de los genes relacionados con cáncer

Tipo/nombre	Naturaleza del producto génico
CATEGORÍA I: GENES QUE INDUCEN PROLIFERACIÓN CELULAR	
Factores de crecimiento	
sis	Forma del factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF)
Receptores de factores de crecimiento	
fms	Receptor para el factor 1 estimulante de colonias (CSF-1)
erbB	Receptor para el factor de crecimiento epidérmico (EGF)
neu	Proteína (HER2) relacionada con el receptor de EGF
erbA	Receptor para la hormona tiroidea
Transductores de señales	
src	Tirosincinasa
abl	Tirosincinasa
Ha-*ras*	Proteína fijadora de GTP con actividad de GTP-asa
N-*ras*	Proteína fijadora de GTP con actividad de GTP-asa
K-*ras*	Proteína fijadora de GTP con actividad de GTP-asa
Factores de transcripción	
jun	Componente del factor AP1 de transcripción
fos	Componente del factor AP1 de transcripción
myc	Proteína de unión a DNA
CATEGORÍA II: GENES SUPRESORES TUMORALES, INHIBIDORES DE LA PROLIFERACIÓN CELULAR*	
Rb	Supresor del retinoblastoma
p53	Fosfoproteína nuclear que inhibe la formación de cáncer pulmonar de células pequeñas y cáncer de colon
DCC	Supresor del carcinoma de colon
APC	Supresor de la poliposis adenomatosa
NF1	Supresor de la neurofibromatosis
WT1	Supresor del tumor de Wilms
CATEGORÍA III: GENES QUE REGULAN LA MUERTE CELULAR PROGRAMADA	
bcl-2	Supresor de la apoptosis

*La actividad de los productos normales de los genes de la categoría II inhibe el progreso del ciclo celular. La pérdida de un gen o su desactivación por mutación en un gen supresor tumoral indicado se acompaña de desarrollo de los cánceres señalados.

Otros oncogenes de esta categoría codifican productos que funcionan en las vías de transducción de señales o como factores de transcripción. Los oncogenes *src* y *abl* codifican tirosincinasas, y el oncogén *ras* codifica una proteína fijadora de GTP. Los productos de estos genes actúan como transductores de señales. Los oncogenes *myc, jun* y *fos* codifican factores de transcripción. La hiperactividad de cualesquiera de estos oncogenes puede causar proliferación descontrolada.

Inhibición de la proliferación celular

Los genes relacionados con el cáncer de una segunda categoría, denominados **genes supresores tumorales**, o antioncogenes, codifican proteínas que inhiben la proliferación celular excesiva. La inactivación de éstos tiene como resultado proliferación descontrolada. El prototipo de los oncogenes de esta categoría es *Rb,* el gen del retinoblastoma. El retinoblastoma hereditario es un cáncer raro de la infancia en el que se desarrollan tumores a partir de células nerviosas precursoras localizadas en la retina inmadura. El niño afectado ha heredado un alelo *Rb;* la desactivación somática del alelo *Rb* restante provoca crecimiento del tumor. Es probable que la anormalidad genética individual más frecuente en el cáncer humano sea la mutación de *p53*, que codifica una fosfoproteína nuclear. Más de 90% de los cánceres pulmonares de células pequeñas y 50% de los cánceres de mama y colon se caracterizan por mutaciones de *p53.*

Regulación de la muerte celular programada

Los genes relacionados con el cáncer de una tercera categoría regulan la muerte celular programada. Estos genes codifican proteínas que bloquean la apoptosis o la inducen. En esta categoría de oncogenes se incluye *bcl-2*, gen contra la apoptosis. Este oncogén se descubrió por su relación con el linfoma folicular de células B. Se ha demostrado desde su descubrimiento que el *bcl-2* tiene un papel relevante en la regulación de la supervivencia celular durante la hematopoyesis y la supervivencia de células B y T seleccionadas durante la maduración. Es interesante que el virus de Epstein-Barr contiene un gen con homología de secuencia con el *bcl-2* que puede actuar de manera semejante para suprimir la apoptosis.

Los protooncogenes pueden convertirse en oncogenes

En 1972, R. J. Huebner y G. J. Todaro sugirieron que las mutaciones o los reordenamientos genéticos de los protooncogenes por carcinógenos o virus podrían alterar la función normal regulada de estos genes y convertirlos en potentes oncogenes productores de cáncer (fig. 21-2). Se han acumulado durante los años siguientes pruebas sólidas en favor de esta hipótesis. Por ejemplo, algunas células transformadas en malignas contienen copias múltiples de oncogenes celulares, lo que tiene como consecuencia aumento de la elaboración de productos oncogénicos. Esta amplificación de los oncogenes celulares se observó en células de diversos tipos de cánceres humanos. Varios grupos de investigadores han identificado oncogenes c-*myc* en las regiones de tinción homogénea (HSR, del inglés *homogeneously staining regions*) de los cromosomas de células cancerosas; estas HSR representan largos arreglos en tándem de genes amplificados.

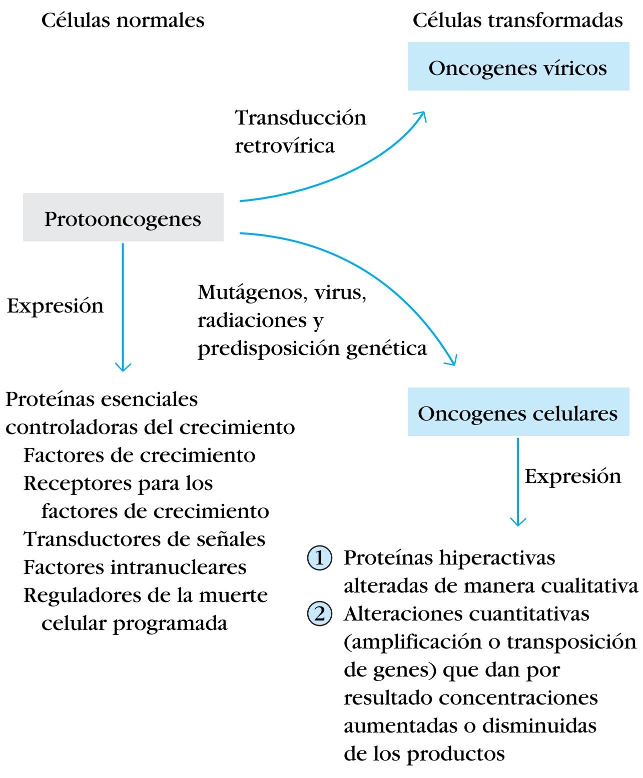

Células normales
Células transformadas
Oncogenes víricos
Transducción retrovírica
Protooncogenes
Expresión
Mutágenos, virus, radiaciones y predisposición genética
Proteínas esenciales controladoras del crecimiento
Factores de crecimiento
Receptores para los factores de crecimiento
Transductores de señales
Factores intranucleares
Reguladores de la muerte celular programada
Oncogenes celulares
Expresión
① Proteínas hiperactivas alteradas de manera cualitativa
② Alteraciones cuantitativas (amplificación o transposición de genes) que dan por resultado concentraciones aumentadas o disminuidas de los productos

FIGURA 21-2 La conversión de protooncogenes en oncogenes puede implicar mutación, por lo que se forman productos génicos diferentes desde el punto de vista cualitativo o amplificación o transposición del DNA, con aumento o decremento resultantes de la expresión de productos génicos.

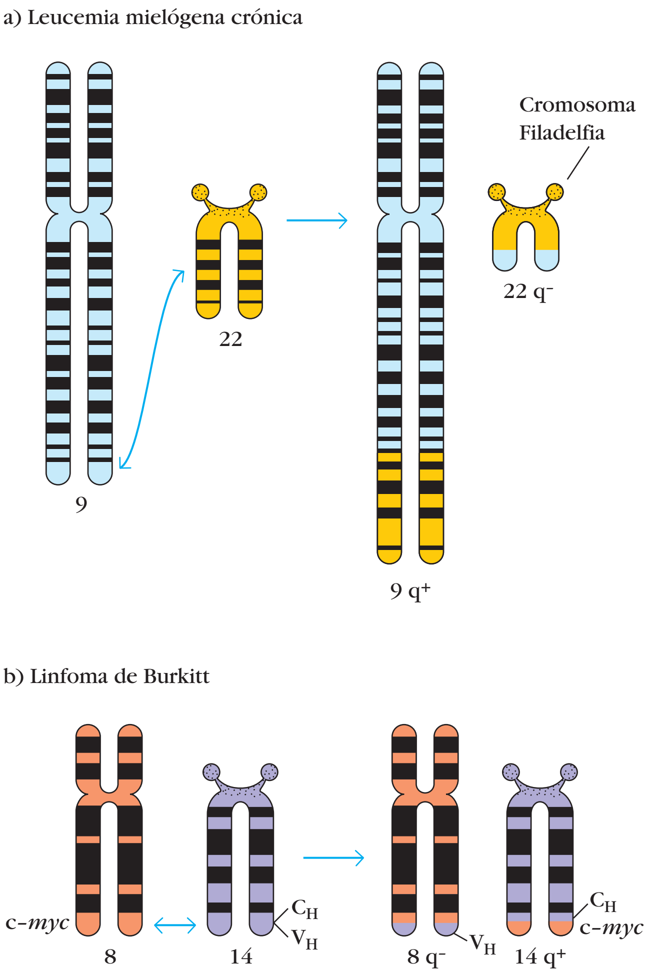

a) Leucemia mielógena crónica
9
22
Cromosoma Filadelfia
$22\ q^-$
$9\ q^+$
b) Linfoma de Burkitt
c–*myc*
8
14
C_H
V_H
$8\ q^-$
V_H
$14\ q^+$
C_H
c–*myc*

FIGURA 21-3 Transposiciones cromosómicas en células de leucemia mielógena crónica (CML) (a) y linfoma de Burkitt (b). Las células leucémicas de todos los pacientes con CML contienen el llamado cromosoma Filadelfia, resultante de una transposición entre los cromosomas 9 y 22. Las células cancerosas de algunos pacientes con linfoma de Burkitt manifiestan una transposición que mueve una parte del cromosoma 8 hasta el cromosoma 14. En la actualidad se sabe que esta transposición incluye a c-*myc*, un oncogén celular. Anomalías como ésta se identifican mediante análisis de bandas de cromosomas en la metafase. A la izquierda se ilustran los cromosomas normales y a la derecha los cromosomas transpuestos.

Además, algunas células cancerosas manifiestan transposiciones cromosómicas, consistentes por lo general en desplazamiento de un protooncogén de un sitio cromosómico a otro (fig. 21-3). En muchos casos de linfoma de Burkitt, por ejemplo, el oncogén c-*myc* se desplaza desde su posición normal en el cromosoma 8 hasta una posición cercana al intensificador de la cadena pesada de inmunoglobulina en el cromosoma 14. Como resultado de esta transposición, aumenta la síntesis de proteína c-Myc, que funciona como factor de transcripción.

La mutación en los protooncogenes se ha relacionado también con transformación celular y puede ser un mecanismo de primera importancia mediante el cual los carcinógenos químicos o la radiación X convierten un protooncogén en un gen inductor de cáncer. Por ejemplo, se han identificado mutaciones

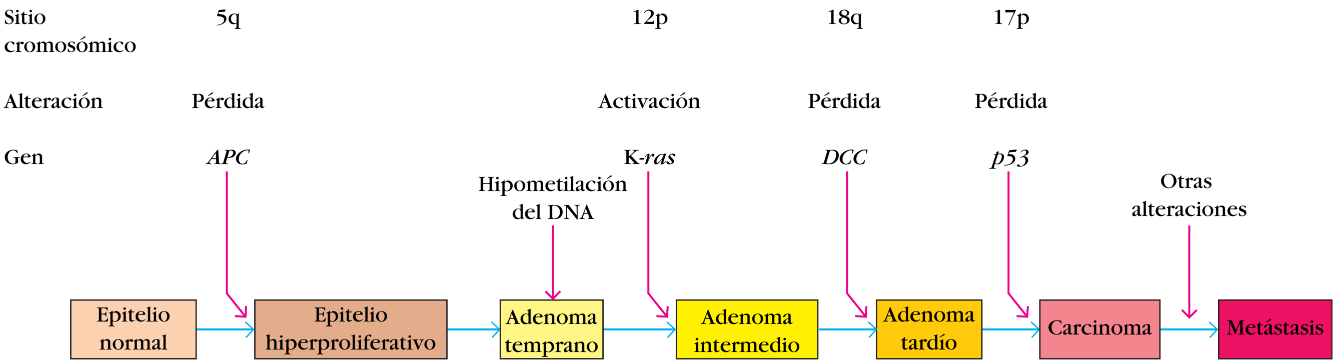


FIGURA 21-4 Modelo de alteraciones genéticas secuenciales que culminan en el cáncer de colon metastásico. Cada una de las etapas indicadas en la parte de abajo es diferente en sentido morfológico, lo que ha permitido a los investigadores identificar la secuencia de las alteraciones genéticas. *[Adaptada de B. Vogelstein y K. W. Kinzler, 1993,* Trends in Genetics ***9:****138.]*

puntuales individuales en el gen c-*ras* en una fracción importante de varios cánceres humanos, entre ellos los carcinomas de vejiga, colon y pulmón. Algunas de estas mutaciones parecen reducir la capacidad de la proteína Ras de unirse a las proteínas estimuladoras de GTPasa, con lo que prolonga el estado activado por crecimiento de Ras.

La integración vírica en el genoma de la célula hospedadora puede servir, por sí misma, para convertir un protooncogén en un gen transformador. Por ejemplo, el virus de la leucosis aviar (ALV, del inglés *avian leukosis virus*) es un retrovirus que no porta oncogenes víricos, pero aun así es capaz de transformar las células B en linfomas. Se ha demostrado que este retrovirus particular se integra dentro del protooncogén c-*myc*, que contiene tres exones. No se conoce la función del exón 1 de c-*myc*; los exones 2 y 3 codifican la proteína Myc. Se ha demostrado que la inserción de AVL entre los exones 1 y 2 permite en algunos casos al promotor del provirus incrementar la transcripción de los exones 2 y 3, lo que propicia un aumento de la síntesis de c-Myc.

Se ha observado que diversos tumores expresan concentraciones significativamente mayores de factores de crecimiento o receptores de estos factores. La expresión del receptor de factor de crecimiento epidérmico, codificado por c-*erbB*, se amplifica en muchas células cancerosas. Además, el aumento de la síntesis del receptor de factor de crecimiento codificado por c-*neu* se ha vinculado con mal pronóstico.

La inducción del cáncer es un proceso de múltiples etapas

El desarrollo de una célula normal para convertirse en célula cancerosa suele ser un proceso de múltiples etapas de evolución clonal promovido por una serie de mutaciones somáticas que convierten el crecimiento de la célula desde lo normal hasta un estado precanceroso y, por último, un estado canceroso.

La presencia de miríadas de anormalidades cromosómicas en las células precancerosas y cancerosas brinda apoyo a la participación de múltiples mutaciones en el desarrollo del cáncer. Esto se ha demostrado en el cáncer de colon humano, que pasa por una serie de etapas morfológicas bien definidas (fig. 21-4). El cáncer de colon se inicia en la forma de pequeños tumores benignos denominados adenomas en el epitelio colorrectal. Estos tumores precancerosos crecen y el interior de sus células se vuelve cada vez más desorganizado hasta que éstas adoptan el fenotipo maligno. Las etapas morfológicas del cáncer de colon se han correlacionado con una sucesión de cambios génicos que abarcan desactivación o pérdida de tres genes supresores tumorales (*APC, DCC* y *p53*) y activación de un oncogén de proliferación celular (K-*ras*).

Los resultados de estudios con ratones transgénicos se inclinan también en favor de la función de múltiples etapas en la inducción del cáncer. Los ratones transgénicos que expresan concentraciones elevadas de Bcl-2 desarrollan una población de pequeñas células B en reposo, derivadas de folículos linfoides secundarios, que han extendido mucho la duración de sus vidas. Estos ratones transgénicos desarrollan linfomas de manera gradual. El análisis de los linfomas de estos ratones ha demostrado que cerca de la mitad tiene una transposición c-*myc* en el locus de la cadena H de inmunoglobulina. Se pone de relieve la sinergia entre Myc y Bcl-2 en los ratones doblemente transgénicos producidos al aparear ratones transgénicos *bcl-2*$^{+}$ con ratones transgénicos *myc*$^{+}$. Estos ratones desarrollan leucemia con gran rapidez.

Tumores del sistema inmunitario

Los tumores del sistema inmunitario se clasifican como linfomas o leucemias. Los linfomas proliferan como tumores sólidos dentro de un tejido linfoide, como médula ósea, ganglios linfáticos o timo; incluyen las variantes de Hodgkin y no Hodgkin. Las leucemias tienden a proliferar como células independientes y se identifican por su mayor concentración en la sangre o la linfa. La leucemia se puede desarrollar en linajes linfoides o mieloides. Dado que el cáncer de células T causado por HTLV-1 puede ocurrir en poblaciones circulantes o tisulares de esas células, el trastorno se denomina leucemia o linfoma de células T del adulto, o ATLL (del inglés *adult T-cell leukemia/lymphoma*).

Históricamente, las leucemias se clasificaron como agudas o crónicas según el avance clínico de la enfermedad. Las leucemias agudas aparecieron de manera repentina y progresaron con rapidez, en tanto que las leucemias crónicas fueron mucho menos agresivas y se desarrollaron con lentitud como enfermedades leves apenas sintomáticas. Estas distinciones clínicas se aplican a las leucemias no tratadas; gracias a las terapéuticas disponibles en la actualidad, las leucemias agudas suelen tener un buen

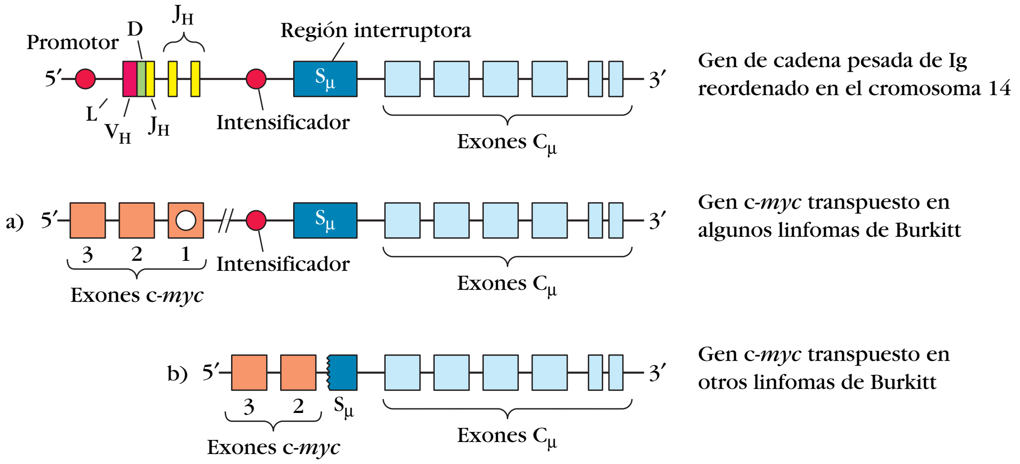

Promotor
D
J_H
Región interruptora
5′
Sμ
3′
L
V_H
J_H
Intensificador
Exones Cμ
Gen de cadena pesada de Ig reordenado en el cromosoma 14
a) 5′
Sμ
3′
3
2
1
Intensificador
Exones c-myc
Exones Cμ
Gen c-myc transpuesto en algunos linfomas de Burkitt
b) 5′
3′
3
2
Sμ
Exones c-myc
Exones Cμ
Gen c-myc transpuesto en otros linfomas de Burkitt

FIGURA 21-5 En muchos pacientes con linfoma de Burkitt, el gen c-*myc* se transpone al cúmulo de genes de cadena pesada de inmunoglobulina en el cromosoma 14. En algunos casos se inserta todo el gen c-*myc* cerca del intensificador de la cadena pesada (a), pero en otros casos sólo se insertan los exones codificadores (2 y 3) de este gen a nivel del sitio interruptor S_μ (b). Sólo los exones 2 y 3 de c-*myc* son codificadores. La transposición puede producir sobreexpresión de c-Myc.

pronóstico y, a menudo, se logra la remisión permanente. Hoy en día, la distinción principal entre las leucemias agudas y crónicas se encuentra en la madurez de las células participantes. Las leucemias agudas tienden a originarse en células menos maduras, mientras que las crónicas lo hacen en células maduras. Las agudas son **leucemia linfocítica aguda** (**ALL**, del inglés *acute lymphocytic leukemia*) y **leucemia mielógena aguda** (**AML**, del inglés *acute myelogenous leukemia*); estas enfermedades se pueden desarrollar a cualquier edad y su inicio es rápido. Las crónicas son **leucemia linfocítica crónica** (**CLL**) y **leucemia mielógena crónica** (**CML**); estas anormalidades se desarrollan con lentitud y ocurren en adultos.

En diversas leucemias y linfomas de células B y T interviene un protooncogén que se ha transpuesto en los genes de la inmunoglobulina o los genes del receptor de célula T. Una de las mejor caracterizadas es la transposición de c-*myc* en el linfoma de Burkitt y los plasmacitomas murinos. En 75% de los sujetos con linfoma de Burkitt, el c-*myc* se transpone desde el cromosoma 8 hasta el cúmulo de genes de la cadena pesada de Ig en el cromosoma 14 (fig. 21-3b). En los individuos restantes, c-*myc* se conserva en el cromosoma 8 y los genes de las cadenas ligeras κ o γ se transponen a una región 3′ de c-*myc*. Se observan transposiciones del gen κ desde el cromosoma 2 hasta el cromosoma 8 en 9% de las ocasiones y transposiciones del gen γ desde el cromosoma 22 hasta el cromosoma 8 en 16% de las veces.

Se han analizado las transposiciones de c-*myc* al cúmulo de genes de la cadena pesada de Ig sobre el cromosoma 14 y se ha observado que en algunos casos todo el gen c-*myc* se transpone frente a frente con una región cercana al intensificador de la cadena pesada. En otros casos se transponen los exones 1, 2 y 3 o los exones 2 y 3 de c-*myc* frente a frente con el sitio interruptor Sμ o Sα (fig. 21-5). En cada caso la transposición remueve a los exones de codificación *myc* desde los mecanismos reguladores que operan en el cromosoma 8 y los coloca en la región del gen de la inmunoglobulina, región muy activa que se expresa de manera constitutiva en estas células. Se han investigado en ratones transgénicos las consecuencias de los niveles elevados de expresión *myc* constitutiva mediada por intensificador en las células linfoides. En un estudio se produjeron ratones que contenían un transgén constituido por los tres exones de c-*myc* y el intensificador de la cadena pesada de inmunoglobulina. De las 15 crías transgénicas nacidas, 13 desarrollaron linfomas del linaje de células B en los pocos meses siguientes al nacimiento.

Antígenos tumorales

La subdisciplina de la inmunología tumoral abarca el estudio de los antígenos en células tumorales y la inmunorreacción a estos antígenos. Se han identificado dos tipos de antígenos tumorales en estas células: **antígenos de trasplante específicos de tumor** (**TSTA**, del inglés *tumor-specific transplantation antigens*) y **antígenos del trasplante relacionados con tumor** (**TATA**, del inglés *tumor-associated transplantation antigens*). Los antígenos específicos de tumor son únicos de las células tumorales y no aparecen en células normales del cuerpo. Pueden ser resultado de mutaciones en las células tumorales que generan proteínas celulares alteradas; el procesamiento citosólico de estas proteínas originaría péptidos novedosos que se presentan con moléculas MHC clase I, lo que induciría una reacción celular por linfocitos citotóxicos específicos del tumor (fig. 21-6). Los antígenos relacionados con tumor, que no son únicos de las células tumorales, pueden ser proteínas que se expresan en células normales durante el desarrollo fetal cuando el sistema inmunitario es inmaduro y no puede reaccionar, pero que habitualmente no se expresan en el adulto. (Debe hacerse notar que la designación "trasplante" en TSTA surge de estudios en que los antígenos se descubrieron trasplantándolos en animales receptores a fin de medir inmunorreacciones.) La reactivación de los genes embrionarios que codifican estas proteínas en las células tumorales tiene como resultado su expresión en células tumorales del todo diferenciadas. Los antígenos relacionados con el tumor pueden ser también proteínas que se expresan casi siempre a concentraciones extremadamente bajas en células normales, pero que

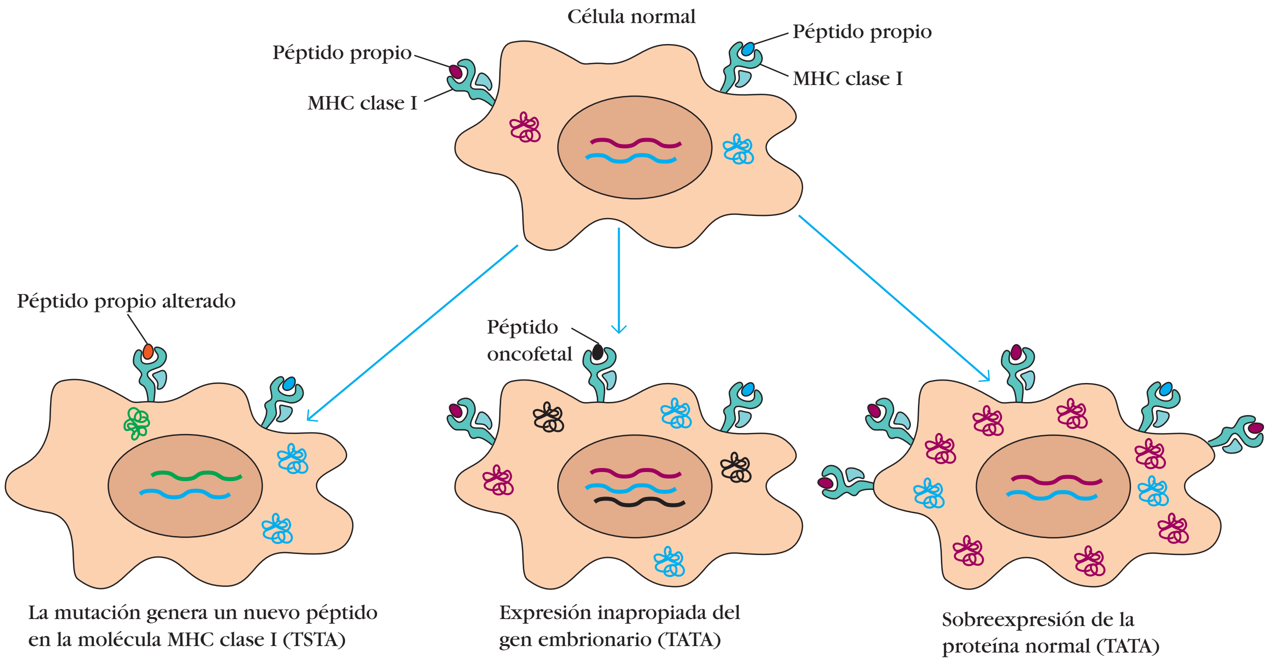

Célula normal
Péptido propio
MHC clase I
Péptido propio
MHC clase I
Péptido propio alterado
Péptido oncofetal
La mutación genera un nuevo péptido en la molécula MHC clase I (TSTA)
Expresión inapropiada del gen embrionario (TATA)
Sobreexpresión de la proteína normal (TATA)

FIGURA 21-6 Diferentes mecanismos generan antígenos de trasplante específicos de tumor (TSTA) y antígenos de trasplante relacionados con tumor (TATA). Estos últimos son más frecuentes.

lo hacen a niveles mucho más elevados en las tumorales. Está claro que los antígenos tumorales reconocidos por las células T humanas corresponden a una de cuatro categorías principales:

- Antígenos codificados por genes que se expresan de modo exclusivo en tumores.
- Antígenos codificados por formas variantes de genes normales que se han transformado por mutación.
- Antígenos que normalmente sólo se expresan durante las etapas de diferenciación o que sólo son expresados por ciertos linajes de diferenciación.
- Antígenos que se sobreexpresan en tumores específicos.

Muchos antígenos tumorales son proteínas celulares que originan péptidos presentados con moléculas MHC; de manera característica, estos antígenos se han identificado por su capacidad de inducir la proliferación de linfocitos T citotóxicos específicos de antígeno o células T colaboradoras (T_H).

Algunos antígenos son específicos de tumor

Se han identificado antígenos específicos de tumor en tumores inducidos por carcinógenos químicos o físicos y en algunos inducidos por virus. Demostrar la presencia de antígenos tumorales específicos en neoplasias que ocurren de manera espontánea es en particular difícil porque la inmunorreacción a estos tumores elimina todas las células tumorales que portan cantidades suficientes de antígenos y, de esta manera, selecciona células que portan estos antígenos en concentraciones bajas.

Antígenos tumorales inducidos por medios químicos o físicos

Dos agentes carcinógenos que se han empleado con amplitud para generar líneas de células tumorales son metilcolantreno y luz ultravioleta. Cuando se inyectan células muertas de una línea tumoral inducida por carcinógeno a animales singénicos, éstos desarrollan una inmunorreacción específica que puede protegerlos contra la carga ulterior de células vivas de la misma línea, pero no de otras líneas de células tumorales (cuadro 21-2). Incluso cuando el mismo carcinógeno químico induce dos tumores

CUADRO 21-2 Reacción inmunitaria al metilcolantreno (MCA) o al virus del polioma (PV)*

Células tumorales muertas trasplantadas	Células tumorales vivas para inoculación	Crecimiento tumoral
QUÍMICAMENTE INDUCIDOS		
Sarcoma A inducido por MCA	Sarcoma A inducido por MCA	–
Sarcoma A inducido por MCA	Sarcoma B inducido por MCA	+
INDUCIDOS POR VIRUS		
Sarcoma A inducido por PV	Sarcoma A inducido por PV	–
Sarcoma A inducido por PV	Sarcoma B inducido por PV	–
Sarcoma A inducido por PV	Sarcoma C inducido por SV40	+

*Los tumores se indujeron con MCA o PV, y las células muertas provenientes del tumor inducido se inyectaron a animales singénicos, que a continuación recibieron una carga de células vivas de las líneas celulares tumorales indicadas. La falta de crecimiento tumoral después de la carga de células vivas indica que la reacción inmunitaria inducida por los antígenos tumorales sobre las células muertas brindó protección contra estas células vivas.

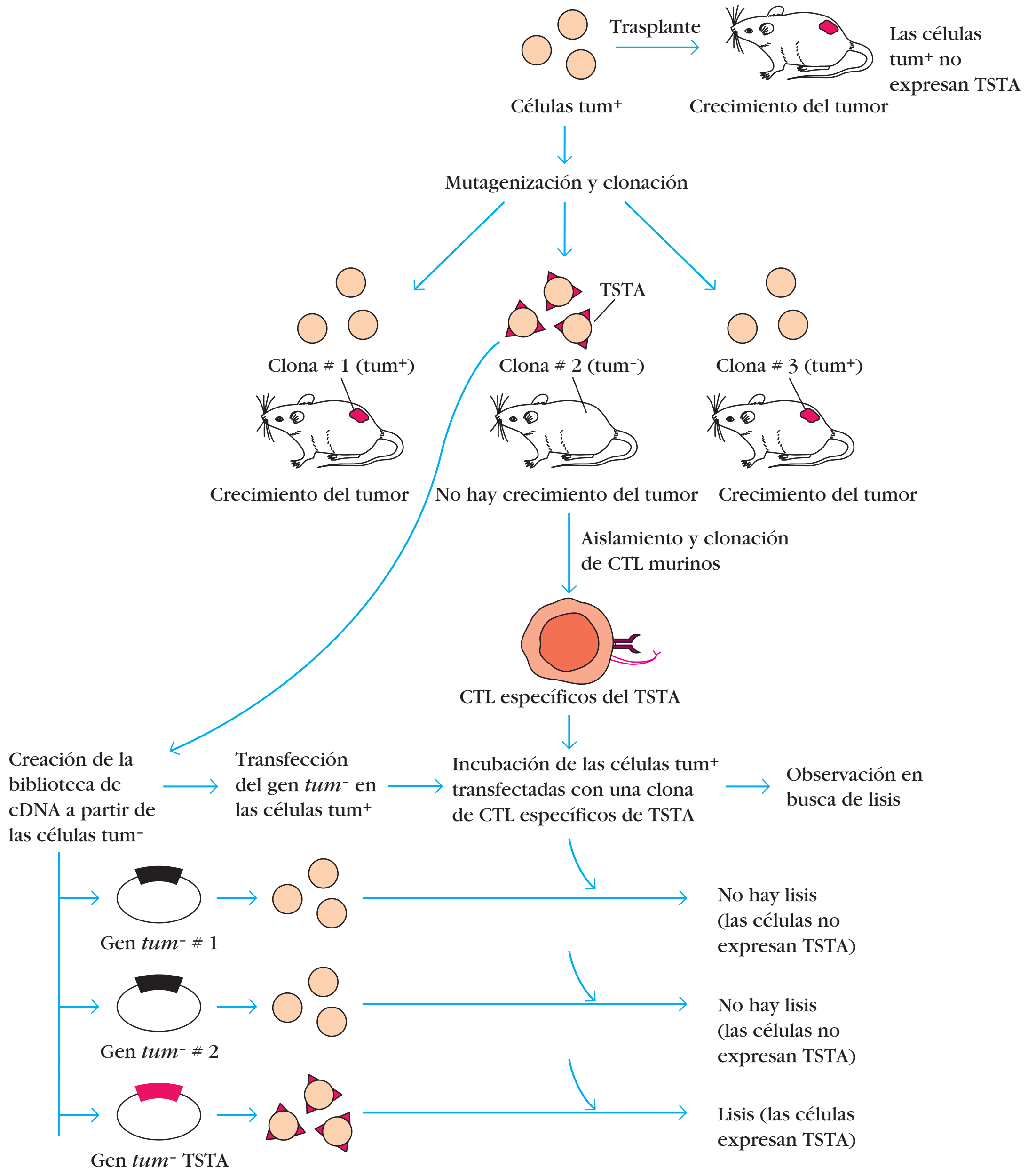

Células tum+
Trasplante
Crecimiento del tumor
Las células tum+ no expresan TSTA
Mutagenización y clonación
TSTA
Clona # 1 (tum+)
Clona # 2 (tum-)
Clona # 3 (tum+)
Crecimiento del tumor
No hay crecimiento del tumor
Crecimiento del tumor
Aislamiento y clonación de CTL murinos
CTL específicos del TSTA
Creación de la biblioteca de cDNA a partir de las células tum-
Transfección del gen tum- en las células tum+
Incubación de las células tum+ transfectadas con una clona de CTL específicos de TSTA
Observación en busca de lisis
Gen tum- # 1
Gen tum- # 2
Gen tum- TSTA
No hay lisis (las células no expresan TSTA)
No hay lisis (las células no expresan TSTA)
Lisis (las células expresan TSTA)

FIGURA 21-7 Un procedimiento para identificar genes codificadores de antígenos de trasplante específicos de tumor (TSTA). La mayor parte de los TSTA se puede identificar sólo por el rechazo mediado por células que inducen. En la primera parte de este procedimiento se genera una línea celular no tumorígena (tum$^-$); esta línea celular expresa un TSTA que es reconocido por los ratones singénicos, los cuales montan una reacción mediada por células contra ese antígeno. Para aislar el gen que codifica el TSTA, se crea una biblioteca génica de cósmidos a partir de la línea celular tum$^-$, se transfectan los genes a células tumorígenas tum$^-$, y las células transfectadas se incuban con linfocitos T citotóxicos específicos de TSTA.

separados en diferentes sitios del mismo animal, los antígenos tumorales son distintos y la reacción inmunitaria a un tumor no suministra protección contra el otro.

En el caso de tumores inducidos por medios químicos ha sido difícil caracterizar los antígenos de trasplante específicos de tumor, ya que no pueden identificarse por los anticuerpos inducidos sino sólo por su rechazo mediado por células T. En la figura 21-7 se ilustra un método experimental que ha permitido identificar genes codificadores de ciertos TSTA. Cuando se trata in vitro con un mutágeno químico una línea celular tumorígena murina (tum$^+$), que da lugar a tumores que crecen de manera progresiva, algunas células sufren mutación de modo que dejan de ser capaces de crecer y convertirse en un tumor en ratones singénicos. Estas células tumorales mutantes se denominan variantes tum$^-$. Se ha demostrado que la mayoría de las variantes tum$^-$ muestra TSTA no expresados por la línea celular tumoral tum$^+$ original. Cuando se inyectan células tum$^-$ a ratones singénicos, los únicos TSTA que expresan estas células son reconocidos por linfocitos T citotóxicos (CTL) específicos. Los CTL específicos de TSTA destruyen las células tumora-

ENFOQUE CLÍNICO

Una vacuna que previene el cáncer

Con la excepción de los anticuerpos monoclonales, que atacan células cancerosas específicas (cuadro 21-4), la mayoría de los tratamientos propuestos contra el cáncer requiere de protocolos extremadamente complejos que implican vigilancia por medio de elaboradas técnicas clínicas. En consecuencia, la aplicación de estos tratamientos a poblaciones de alto riesgo en comunidades pobres y en regiones poco desarrolladas del mundo sigue siendo una posibilidad remota en el mejor de los casos. En contraste, una vacuna económica, fácil de administrar y eficaz para prevenir un cáncer muy frecuente tiene un enorme potencial de salvar vidas en todo el mundo. Estudios recientes sobre una vacuna para combatir el virus del papiloma humano (HPV), el agente causal del cáncer de cuello uterino (cáncer cervicouterino), sugieren que la meta de prevención del cáncer podría estar al alcance de la mano.

Cada año, unas 500 000 mujeres desarrollan cáncer cervicouterino, y 270 000 mueren a causa de esta enfermedad. En Estados Unidos, este tipo de cáncer ocupa aproximadamente el séptimo lugar entre los cánceres letales, mientras que en el Tercer Mundo sólo es superado por el cáncer mamario como causa de muerte de mujeres. El examen ginecológico periódico (con la prueba de Papanicolaou) para detectar infiltrados celulares cervicales reduce en grado significativo el riesgo para las mujeres, pero un programa de atención a la salud que incluya frotis de Papanicolaou periódicos suele estar fuera del alcance de los menos pudientes.

El HPV está implicado en más de 99% de los casos de cáncer cervicouterino. Existen múltiples serotipos del HPV, y la infección por varias de estas cepas causa lesiones anogenitales (verrugas) en varones y mujeres. La frecuencia de infección por HPV varía en distintas poblaciones de alrededor de 7% a más de 60%. Un estudio reciente de mujeres estudiantes de la University of Washington reveló que luego de cinco años, más de 60% de las participantes en el estudio (todas las cuales eran negativas para HPV cuando se enrolaron en el estudio) se había infectado. La mayoría de las infecciones se resuelve sin enfermedad; es la infección persistente que provoca neoplasia intraepitelial cervical la que se vincula con riesgo elevado de cáncer. De la docena de serotipos de HPV prevalentes, dos, el 16 y el 18, causan más de 70% de los casos de cáncer cervicouterino y por tanto constituyen blancos apropiados para una vacuna contra el cáncer.

El HPV es un virus de DNA con genoma de alrededor de 8 kb. Codifica una cantidad sorprendente de información en su genoma relativamente pequeño, porque transcribe desde tres marcos de lectura. Entre las proteínas codificadas en los genes de HPV dos son estructurales, L1 y L2, además de un grupo de proteínas no estructurales designadas E1 a E7. La contribución de estas proteínas al desarrollo de cáncer está bien documentada, y el principal suceso es la inhabilitación de la actividad apoptósica normal de la célula infectada por la proteína vírica E6. El bloqueo de la apoptosis es una adaptación protectora del virus; normalmente la célula hospedadora experimentaría la muerte apoptósica en respuesta a la infección vírica. Otra proteína vírica, E7, activa genes que inician el ciclo celular, lo cual permite a la célula infectada proliferar. El resultado es una célula infectada por HPV que prolifera bien y ha perdido la capacidad de morir por apoptosis; en otras palabras, es una célula cancerosa potencial.

Por tanto, prevenir el cáncer cervicouterino es asunto de prevenir la infección por HPV. Las proteínas víricas L1 o L2 de los serotipos cancerígenos son candi-

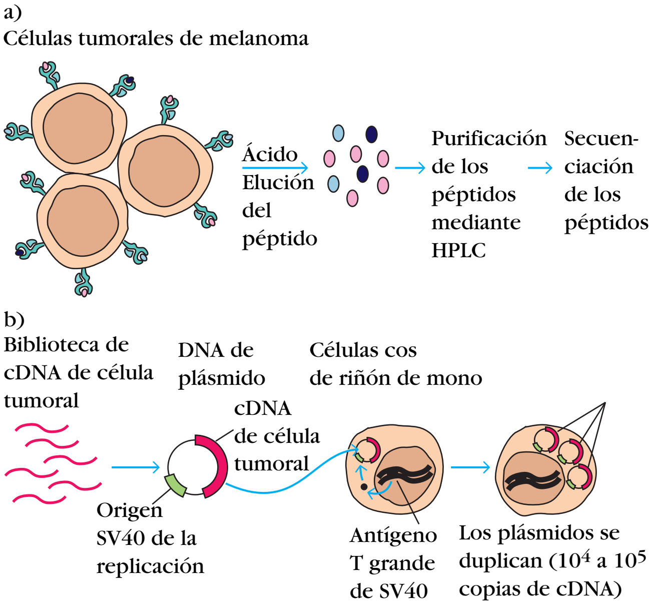
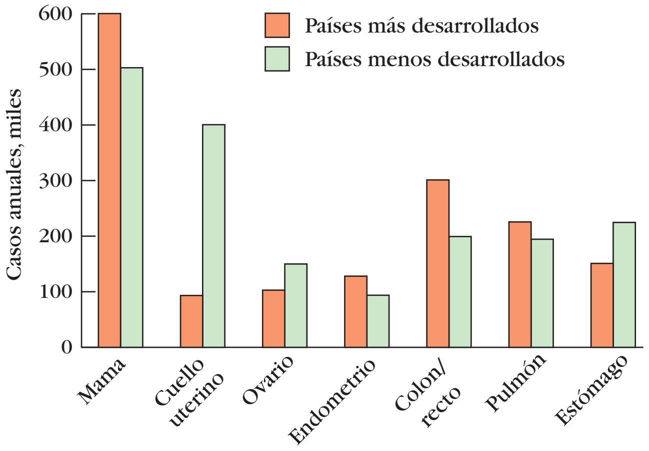

a)
Células tumorales de melanoma
Ácido
Elución del péptido
Purificación de los péptidos mediante HPLC
Secuenciación de los péptidos
b)
Biblioteca de cDNA de célula tumoral
DNA de plásmido
Células cos de riñón de mono
cDNA de célula tumoral
Origen SV40 de la replicación
Antígeno T grande de SV40
Los plásmidos se duplican (10^4 a 10^5 copias de cDNA)

FIGURA 21-8 Dos métodos empleados para aislar antígenos tumorales que inducen CTL específicos de tumor. Véanse más detalles en el texto.

les tum^{-}, con lo que previenen el crecimiento tumoral. Para reconocer los genes que codifican los TSTA que se expresan sobre una línea de células tum^{-} se elabora una biblioteca de DNA de cósmidos a partir de estas células. Los genes de las células tum^{-} se transfectan en las células tum^{+} originales. Las células tum^{+} transfectadas se someten a prueba para identificar la expresión de los TSTA tum^{-} por su capacidad de activar CTL clonados específicos del TSTA tum^{-}. Se han identificado por este método diversos TSTA.

En los últimos años dos métodos han facilitado la caracterización de los TSTA (fig. 21-8). En un método se eluyen con ácido y se purifican mediante cromatografía líquida de alta presión péptidos fijos a moléculas MHC clase I sobre las membranas de células tumorales. En algunos casos se eluyen péptidos suficientes para poder deducir su secuencia por la degradación de Edman. En un segundo método, se elaboran bibliotecas de cDNA a partir de células tumorales. Tales catálogos de cDNA se transfectan de manera transitoria en células COS, que son células de riñón de mono transfectadas con el gen que codifica el antígeno T grande SV40. Cuando estas células se transfectan más tarde con plásmidos que contienen tanto el cDNA de células tumorales como un origen de duplicación SV40, el antígeno T grande estimula la duplicación del plásmido, de tal manera que cada célula produce datos para vacunas profilácticas. Cuando L1 se expresa en líneas celulares transfectadas, se ensambla en una partícula que imita la forma del virus; estas partículas vacías se denominan partículas tipo virus o VLP (del inglés *virus-like particles*). En la actualidad se evalúa una vacuna constituida por VLP acompañados de coadyuvante. Dos productos candidatos se encuentran en ensayos clínicos a gran escala; uno incluye la VLP formada por L1 de HPV de los serotipos 6, 11, 16 y 18, administrada con alumbre como coadyuvante, y el otro consiste en VLP procedentes de L1 de HPV 16 y 18, administrado con el coadyuvante ASO4 (que contiene alumbre y un lípido bacteriano). Los serotipos 6 y 11 se incluyen en la primera vacuna mencionada a fin de atacar los tipos de HPV causantes de verrugas anogenitales en varones y mujeres así como los vinculados con cáncer cervicouterino en mujeres. La inclusión de varones en la población vacunada tendría el beneficio de ayudar a romper el ciclo de infección en las comunidades. Aunque los varones no se benefician de la vacunación contra el cáncer cervicouterino, la prevención de las antiestéticas verrugas constituiría un incentivo para vacunarse.

En ensayos con más de 2 000 mujeres en el grupo de edad de 16 a 25 años, ambas vacunas candidatas han sido altamente eficaces para prevenir las verrugas genitales y la infección persistente por el HPV. Los estudios en marcha con grupos más grandes en todo el mundo determinarán si esta vacuna es suficientemente eficaz para autorizarla y ofrecerla a la población general. Entre las grandes interrogantes aún por resolver se incluye en cuáles poblaciones debe recomendarse la cobertura cuando la vacuna salve los obstáculos en el camino hasta la autorización, si eso llega a ocurrir. Es cuestionable la utilidad de la vacunación basada en L1 de HPV para quienes ya están infectados, de modo que quienes no han tenido una exposición previa serán los más beneficiados. La rápida diseminación del HPV en cohortes jóvenes sexualmente activas, aun entre quienes usan preservativos, sugiere que las mujeres jóvenes constituyen la población que mayor cobertura debe recibir. Si bien puede esperarse que las decisiones acerca de una vacuna contra una enfermedad de transmisión sexual causen controversia, el objetivo de reducir considerablemente o erradicar el letal cáncer cervicouterino tendrá algún peso en la discusión.



Incidencia de cánceres comunes en mujeres en países más y menos desarrollados. *[Fuente: J. Cohen, 2005, High hopes and dilemmas for a cervical cancer vaccine,* Science ***308:****618.]*

10^4 a 10^5 copias de éste. Esto tiene como resultado la expresión de alto nivel del DNA de la célula tumoral.

Se ha demostrado que los genes que codifican algunos TSTA difieren de los genes celulares normales por una sola mutación de punto. La caracterización adicional de los TSTA ha puesto de manifiesto que muchos de ellos no son proteínas de la membrana celular; más bien, como se indicó con anterioridad, son péptidos cortos derivados de proteínas citosólicas, procesados y presentados junto con moléculas MHC clase I.

Los virus pueden inducir antígenos tumorales

En contraste con los tumores inducidos de manera química, los inducidos por virus expresan antígenos tumorales compartidos por todos los tumores que el mismo virus causa. Por ejemplo, cuando se inyecta a ratones singénicos células muertas de un tumor particular inducido por virus del polioma, los receptores quedan protegidos contra la carga ulterior de células vivas de cualquier tumor inducido por este virus (cuadro 21-2). De manera semejante, cuando se transfieren linfocitos de ratones que tienen un tumor inducido por virus a ratones singénicos receptores normales, estos receptores rechazan los trasplantes subsecuentes de todos los tumores singénicos inducidos por el mismo virus. En el caso de los tumores inducidos por SV40 y virus del polioma, la presencia de antígenos tumorales se relaciona con el estado neoplásico de la célula. En el ser humano se ha demostrado que las células del linfoma de Burkitt expresan un antígeno nuclear del virus de Epstein-Barr que puede ser, en realidad, un antígeno específico para este tipo de tumor. Se encuentran proteínas E6 y E7 del virus del papiloma humano (HPV) en más de 80% de los cánceres cervicouterinos invasores, que son el ejemplo más claro disponible de un antígeno tumoral codificado por un virus. Por este motivo, es muy grande el interés por someter a prueba vacunas candidatas contra el HPV relacionadas con el cáncer cervicouterino (véase el enfoque clínico).

Puede observarse en modelos animales el valor potencial de estos antígenos tumorales inducidos por virus. En un experimento se observó que los ratones inmunizados con un preparado de antígeno tumoral del virus del polioma sometido a ingeniería genética eran inmunes a las inyecciones subsecuentes de células de tumor inducido por dicho virus. En otro experimento se inmunizaron ratones con vacuna del virus de la vaccinia que se hizo portador, por medio de ingeniería genética, del gen que codifica al antígeno tumoral del polioma. Estos ratones

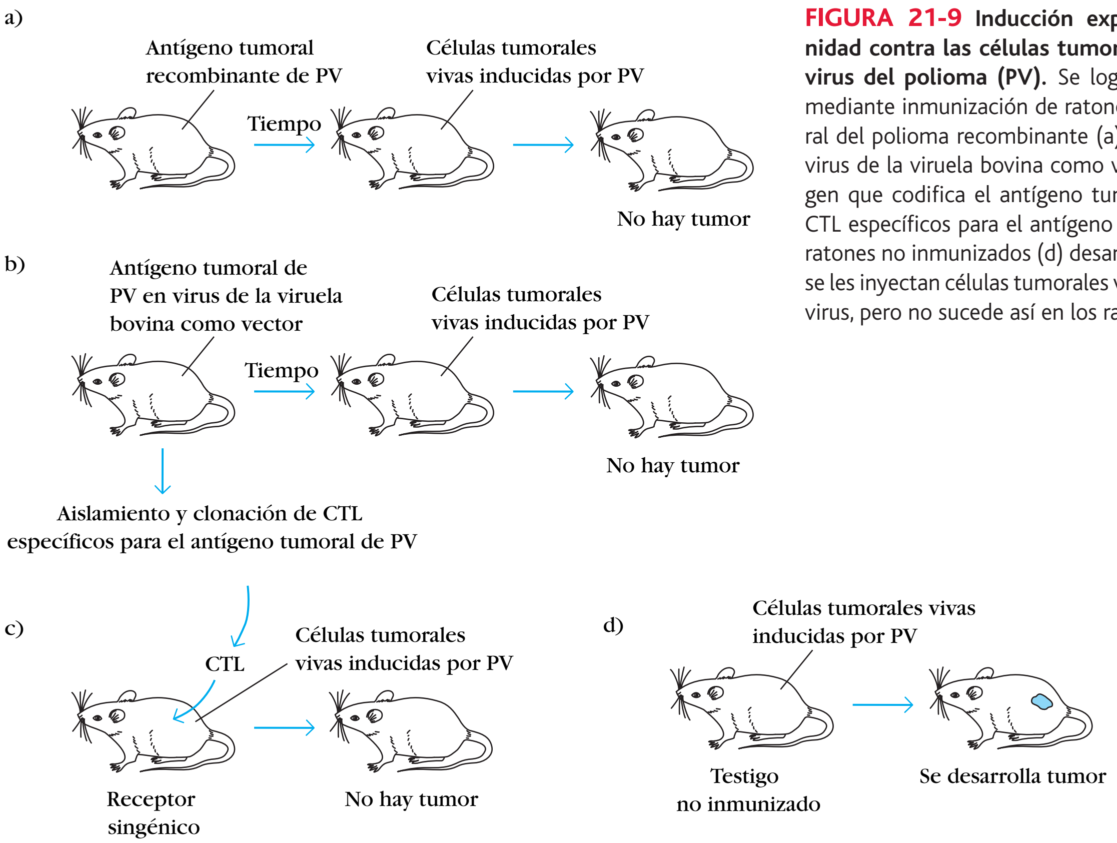

a)
Antígeno tumoral recombinante de PV
Tiempo
Células tumorales vivas inducidas por PV
No hay tumor
b)
Antígeno tumoral de PV en virus de la viruela bovina como vector
Tiempo
Células tumorales vivas inducidas por PV
No hay tumor
Aislamiento y clonación de CTL específicos para el antígeno tumoral de PV
c)
CTL
Células tumorales vivas inducidas por PV
Receptor singénico
No hay tumor
d)
Células tumorales vivas inducidas por PV
Testigo no inmunizado
Se desarrolla tumor

FIGURA 21-9 Inducción experimental de inmunidad contra las células tumorales inducidas por el virus del polioma (PV). Se logra inmunidad tumoral mediante inmunización de ratones con antígeno tumoral del polioma recombinante (a), con una vacuna (con virus de la viruela bovina como vector) que contiene el gen que codifica el antígeno tumoral de PV (b) o con CTL específicos para el antígeno tumoral de PV (c). Los ratones no inmunizados (d) desarrollan tumores cuando se les inyectan células tumorales vivas inducidas por este virus, pero no sucede así en los ratones inmunizados.

desarrollaron también inmunidad y rechazaron las inyecciones ulteriores de células tumorales vivas inducidas por este virus (fig. 21-9).

Pocos antígenos tumorales son exclusivos de células tumorales

En su inmensa mayoría, los antígenos considerados tumorales no son únicos de las células de tumores, ya que también se encuentran en células normales. Estos antígenos de trasplante relacionados con tumores pueden ser proteínas que suelen expresarse sólo en células fetales pero no en células normales del adulto o son proteínas expresadas a niveles bajos por las células normales, pero a niveles mucho más elevados por las células tumorales. Esta última categoría abarca factores de crecimiento y receptores de éstos, así como proteínas codificadas por oncogenes.

Se expresan diversos receptores de factores de crecimiento a niveles muy incrementados sobre las células tumorales y pueden utilizarse como antígenos relacionados con el tumor. Por ejemplo, las células tumorales de cierta variedad expresan el receptor de factor de crecimiento epidérmico (EGF) a concentraciones 100 veces más altas que las observadas en las células normales. Un ejemplo de factor de crecimiento sobreexpresado que sirve como antígeno relacionado con tumor es un factor de crecimiento transferrina, denominado p97, que ayuda al transporte de hierro hacia el interior de las células. Aunque las células normales expresan menos de 8 000 moléculas de p97 por célula, las de melanoma expresan entre 50 000 y 500 000 moléculas de p97 por célula. Se ha clonado el gen que codifica el factor p97 y se creó una vacuna de virus de la viruela bovina recombinante que porta el gen clonado. Cuando se inyectó esta vacuna a ratones, indujo reacciones inmunitarias humorales y mediadas por células que protegieron a estos ratones contra las células vivas de melanoma que expresaban el antígeno p97. Los resultados como éste ponen de relieve la importancia de identificar los antígenos tumorales como blancos potenciales de la inmunoterapia contra tumores.

Antígenos tumorales oncofetales

Los **antígenos tumorales oncofetales**, como su nombre lo indica, se encuentran sólo en células cancerosas y células fetales normales. Estos antígenos aparecen muy al principio del desarrollo embrionario, antes que entre en pleno funcionamiento el sistema inmunitario; si estos antígenos aparecen más tarde en células cancerosas, se reconocen como extraños e inducen una inmunorreacción. Dos antígenos oncofetales bien estudiados son la **fetoproteína α** (**AFP**, del inglés *alpha-fetoprotein*) y el **antígeno carcinoembrionario** (**CEA**, del inglés *carcinoembrionary antigen*).

Aunque la concentración sérica de AFP cae desde las concentraciones de miligramos en el suero fetal hasta las de nanogramos en el suero del adulto normal, en la mayoría de los pacientes que experimenta cáncer de hígado se encuentran concentraciones elevadas de esta fetoproteína (cuadro 21-3). El CEA es una glucoproteína de membrana que se halla en las células del tubo digestivo y hepáticas de los fetos de dos a seis meses de edad. Cerca de 90% de los sujetos con cáncer colorrectal avanzado y 50% de los individuos con cáncer colorrectal temprano tienen concentraciones séricas elevadas de CEA; algunos enfermos con otros tipos de cáncer manifiestan también concentraciones altas de CEA. Sin embargo, como AFP y CEA se encuentran en cantidades vestigiales (trazas) en algunos adultos sanos y en algunos estados de enfermedad no cancerosa,

CUADRO 21-3 Elevación de las concentraciones séricas de fetoproteína α (AFP) y antígeno carcinoembrionario (CEA) en pacientes con diversas enfermedades

Enfermedad	Núm. de pacientes estudiados	Porcentaje de pacientes con concentraciones elevadas de AFP o CEA*
AFP $>$ 400 μg/ml		
Cirrosis alcohólica	NA	0
Hepatitis	NA	1
Carcinoma hepatocelular	NA	69
Otros carcinomas	NA	0
CEA $>$ 10 mg/ml		
Cancerosas		
Carcinoma de mama	125	14
Carcinoma colorrectal	544	35
Carcinoma gástrico	79	19
Lesión maligna que no es carcinoma	228	2
Carcinoma pancreático	55	35
Carcinoma pulmonar	181	26
No cancerosas		
Cirrosis alcohólica	120	2
Colecistitis	39	1
Enfermedad no maligna	115	0
Enfisema pulmonar	49	4
Pólipos rectales	90	1
Colitis ulcerosa	146	5

*Aunque se pueden encontrar indicios de AFP y CEA en algunos adultos sanos, ninguno tendría concentraciones mayores que las indicadas en el cuadro.

la presencia de estos antígenos oncofetales no es diagnóstica de tumores, sino que más bien sirve para vigilar el crecimiento del tumor. Si, por ejemplo, una persona se sometió a una intervención quirúrgica para resecar un carcinoma colorrectal, se vigilan las concentraciones de CEA después de la intervención quirúrgica. El aumento de la concentración de CEA es una indicación de que se ha reiniciado el crecimiento del tumor.

Proteínas de los oncogenes como antígenos tumorales

Se ha demostrado que diversos tumores expresan antígenos tumorales codificados por oncogenes celulares. Estos antígenos se identifican también en células normales codificadas por el protooncogén correspondiente. En muchos casos no existe una diferencia cualitativa entre los productos del oncogén y el protooncogén; más bien, el sistema inmunitario puede reconocer las concentraciones incrementadas del producto del oncogén. Por ejemplo, como se señaló con anterioridad, las células del cáncer de mama humano evidencian una expresión elevada de la proteína Neu codificada por oncogén, que es un receptor de factor de crecimiento, en tanto que las células de la persona adulta normal expresan sólo trazas de esta proteína. A causa de esta diferencia en la concentración de la proteína Neu, los anticuerpos monoclonales anti-Neu pueden reconocer y eliminar de manera selectiva las células del cáncer mamario sin dañar las normales.

Antígenos de trasplante relacionados con tumor en los melanomas humanos

Se han identificado diversos antígenos de trasplante relacionados con tumor (TATA) en los melanomas humanos. Cinco de éstos, denominados MAGE-1, MAGE-3, BAGE, GAGE-1 y GAGE-2, son antígenos de tipo oncofetal. Cada uno de ellos se expresa en una proporción considerable de melanomas humanos, al igual que en otros diversos tumores de nuestra especie, pero no en tejidos diferenciados normales, salvo el testicular, en el que se expresa en las células de la línea germinal. Además, las células del melanoma sobreexpresan diversos antígenos de diferenciación que se encuentran también en los melanocitos normales, como tirosinasa, gp100, Melan-A o MART-1, y gp75, lo que les permite funcionar como antígenos de trasplante relacionados con tumor.

Otros diversos tumores comparten varios de los antígenos tumorales del melanoma humano. Alrededor de 40% de los melanomas humanos son positivos al antígeno MAGE-1 y alrededor de 75% lo son a MAGE-2 o 3. Además de los melanomas, expresan los antígenos MAGE-1, 2 o 3 un porcentaje elevado de las líneas celulares de glioma, los tumores mamarios, los tumores pulmonares que no son de células pequeñas y los carcinomas de cabeza y cuello. Podrían explotarse estos antígenos tumorales compartidos en beneficio del tratamiento clínico. También es posible producir una vacuna tumoral que exprese el antígeno compartido para tratar diversos tumores de esta clase, como se describe al final del capítulo.

Los tumores pueden inducir reacciones inmunitarias potentes

Se puede demostrar en animales de experimentación que los antígenos tumorales inducen reacciones inmunitarias humorales y mediadas por células que tienen como resultado destrucción de las células malignas. En general, la reacción mediada por células tiene al parecer un papel importante en esta destrucción. Se ha observado que diversos tumores inducen CTL tumorales específicos que reconocen los antígenos tumorales presentados por moléculas MHC clase I en las células malignas. Sin embargo, como se describe más adelante, en cierto número de tumores está disminuida la expresión de moléculas MHC clase I, lo cual limita la función de los CTL específicos en su destrucción.

Células asesinas naturales y macrófagos son importantes en el reconocimiento de tumores

El reconocimiento de las células tumorales por las células asesinas naturales (NK) no está restringido en cuanto a MHC. Por este motivo, no resulta trastornada la actividad de estas células por la expresión disminuida de MHC que algunas de ellas manifiestan. En algunos casos, los receptores Fc que se hallan sobre las células NK pueden fijarse a células tumorales cubiertas por anticuerpo, lo que tiene como consecuencia citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo (ADCC). La relevancia de las células NK en la inmunidad antitumoral es sugerida por la cepa murina mutante llamada beige y el **síndrome**

de Chédiak-Higashi en el ser humano. En cada caso existe un defecto genético que produce alteración notable de las células NK y aumento acompañante en ciertos tipos de cáncer.

Numerosas observaciones indican que los macrófagos activados desempeñan también un papel importante en la reacción inmunitaria a los tumores. Por ejemplo, a menudo se observa que se congregan macrófagos alrededor de los tumores y su presencia suele correlacionarse con regresión tumoral. Al igual que las células NK, los macrófagos no sufren restricción de MHC y expresan receptores Fc, que les permiten fijar al anticuerpo sobre las células tumorales y mediar la ADCC. La función antitumoral de los macrófagos activados es mediada tal vez por enzimas líticas e intermediarios de oxígeno y nitrógeno reactivos. Por consiguiente, los macrófagos activados secretan una citocina denominada factor de necrosis tumoral (TNF-α) que presenta actividad antitumoral potente. Se ha observado que cuando se inyecta TNF-α a animales portadores de tumores, induce hemorragia y necrosis del tumor.

Evasión del sistema inmunitario por los tumores

Aunque es claro que el sistema inmunitario puede reaccionar a las células tumorales, el hecho de que mueran tantas personas cada año por cáncer indica que la respuesta inmunitaria a las células tumorales a menudo es ineficaz. En esta sección se describen diversos mecanismos por medio de los cuales las células tumorales parecen eludir el sistema inmunitario.

Los anticuerpos antitumorales pueden intensificar el crecimiento de los tumores

Después que se descubrió que podían producirse anticuerpos contra antígenos tumorales específicos, se efectuaron intentos por proteger a los animales contra el crecimiento de los tejidos malignos mediante inmunización activa con antígenos tumorales o inmunización pasiva con anticuerpos antitumorales. Para gran sorpresa de los investigadores, estas inmunizaciones no protegieron contra el crecimiento de las lesiones malignas; en muchos casos incrementaron en realidad el crecimiento del tumor.

Se estudió de manera subsecuente la capacidad estimuladora del crecimiento tumoral de los sueros inmunitarios en reacciones de linfólisis mediada por células (CML) in vitro. Se halló que el suero obtenido de animales con crecimiento tumoral progresivo bloqueaba la reacción de CML, mientras que el tomado de animales con tumores en regresión tenía poca actividad bloqueadora o ninguna. K. E. e I. Hellstrom extendieron estas observaciones al demostrar que los niños con neuroblastoma progresivo tenían concentraciones elevadas de alguna clase de factor bloqueador en sus sueros y que los niños con neuroblastoma regresivo carecían de estos factores. Desde estos primeros informes, se ha encontrado que los factores bloqueadores están vinculados con ciertas clases de tumores humanos.

En algunos casos, el propio anticuerpo antitumoral actúa como factor bloqueador. Es posible que el anticuerpo se fije a antígenos específicos del tumor y los oculte para que no los adviertan las células T citotóxicas. En muchos casos, los factores bloqueadores no son sólo anticuerpos, sino éstos están integrados en complejos con antígenos tumorales. Aunque se ha demostrado que estos inmunocomplejos bloquean la reacción de CTL, no se ha identificado el mecanismo de esta inhibición. Los complejos pueden inhibir también la ADCC al fijarse a receptores Fc en las células NK o los macrófagos y bloquear su actividad.

Los anticuerpos pueden modular los antígenos tumorales

Se ha reconocido que ciertos antígenos específicos de tumor desaparecen de la superficie de las células tumorales en presencia de anticuerpo sérico, y que reaparecen una vez que el anticuerpo deja de estar presente. Este fenómeno, conocido como modulación antigénica, se observa con facilidad cuando se inyectan células leucémicas a ratones inmunizados con anterioridad con un antígeno de células T leucémicas (antígeno TL). Estos ratones desarrollan títulos elevados de anticuerpo anti-TL, que se fija al antígeno TL sobre las células leucémicas e induce formación de cubierta, endocitosis, producción de complejos antígeno-anticuerpo, o alguna combinación de éstas. Siempre que se encuentre el anticuerpo, estas células T leucémicas no exhiben el antígeno TL, y por ello no pueden ser eliminadas.

Las células tumorales expresan con frecuencia concentraciones bajas de moléculas MHC clase I

Como los linfocitos citotóxicos (CTL) CD8$^+$ reconocen sólo antígeno relacionado con moléculas MHC clase I, cualquier alteración de la expresión de estas moléculas sobre las células tumorales puede tener un efecto profundo sobre la reacción inmunitaria mediada por CTL. La transformación maligna de las células se acompaña a menudo de reducción (o incluso pérdida completa) de las moléculas MHC clase I, y se ha probado que diversos tumores expresan concentraciones disminuidas de estas moléculas. Como se ilustra en la figura 21-10, la inmunorreacción en sí puede intervenir en la selección de células tumorales con menor expresión de MHC clase I al eliminar de manera preferente aquellas con expresión normal de MHC. La menor expresión de las moléculas MHC clase I se puede acompañar de crecimiento tumoral progresivo, y por lo tanto su ausencia en un tumor es una indicación de mal pronóstico.

Las células tumorales pueden emitir señales coestimuladoras deficientes

La activación de la célula T requiere una señal activadora emitida por el reconocimiento de un complejo péptido-molécula MHC por la célula T receptora, además de una señal coestimuladora transmitida por la interacción de B7 en células presentadoras de antígeno con CD28 en células T. Se necesitan ambas señales para inducir la producción de IL-2 y la proliferación de células T. La inmunogenicidad deficiente de muchas células tumorales puede deberse, en gran medida, a la falta de moléculas coestimuladoras. Sin números suficientes de células presentadoras de antígeno en la proximidad inmediata de un tumor, las células T reciben sólo una señal activadora parcial, lo que puede tener como efecto anergia clonal.

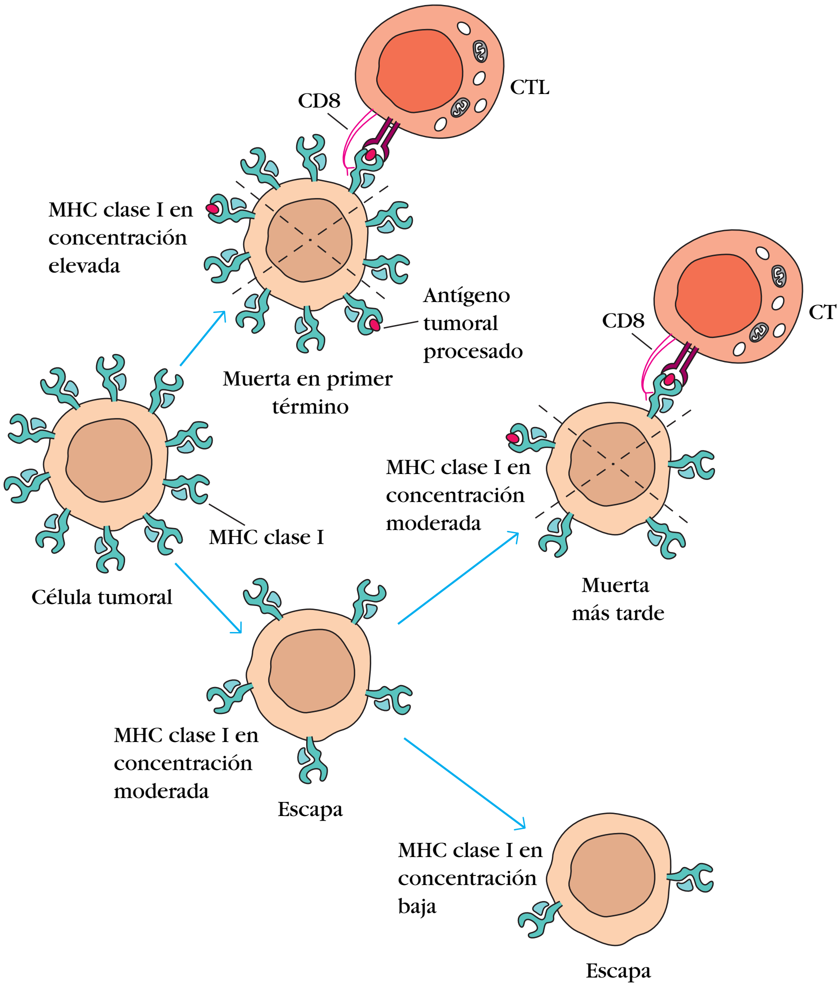

CD8
CTL
MHC clase I en concentración elevada
Antígeno tumoral procesado
Muerta en primer término
CD8
CTL
MHC clase I en concentración moderada
MHC clase I
Célula tumoral
Muerta más tarde
MHC clase I en concentración moderada
Escapa
MHC clase I en concentración baja
Escapa

FIGURA 21-10 La inhibición de la expresión de MHC de clase I sobre las células tumorales puede permitir al tumor escapar al reconocimiento mediado por CTL. Es posible que la inmunorreacción en sí participe en la selección de células tumorales que expresan concentraciones más bajas de moléculas MHC clase I al eliminar de manera preferencial las células que expresan concentraciones elevadas de estas moléculas. Las células tumorales malignas que expresan menos moléculas MHC pueden escapar así a la destrucción mediada por CTL.

Inmunoterapia del cáncer

La inmunoterapia del cáncer asume varias formas. El tratamiento puede consistir en un refuerzo general del sistema inmunitario a través del uso de un coadyuvante o una citocina, o bien en un procedimiento más específico, como el uso de un anticuerpo monoclonal dirigido contra un tipo de tumor dado. En las siguientes secciones se describen agentes inmunoterapéuticos que han sido aprobados para su uso en seres humanos, así como algunos enfoques en desarrollo que podrían generar productos de utilidad clínica para combatir el cáncer en el futuro.

La manipulación de las señales coestimuladoras puede incrementar la inmunidad

Diversos grupos de investigadores han demostrado que se puede incrementar la inmunidad tumoral al proveer la señal coestimuladora necesaria para que se activen los precursores de los CTL (CTL-P; cap. 14). Cuando se incuban CTL-P de ratón con células de melanoma in vitro se produce reconocimiento del antígeno, pero en ausencia de señal coestimuladora estos precursores no proliferan ni se diferencian en CTL efectores. No obstante, cuando las células de melanoma se transfectan con el gen que codifica el ligando B7, los CTL-P se diferencian en CTL efectores.

Estos datos plantean la posibilidad de utilizar células tumorales transfectadas con B7 para inducir una reacción de CTL in vivo. Por ejemplo, cuando P. Linsley, L. Chen y sus colaboradores inyectaron células de melanoma $B7^+$ a ratones portadores de melanoma, los tumores experimentaron regresión completa en más de 40% de los animales. S. Townsend y J. Allison emplearon un criterio semejante para vacunar ratones contra el melanoma maligno. Inmunizaron ratones normales con células de melanoma transfectadas con B7 radiadas, y luego administraron a los animales una carga de células de melanoma maligno no alteradas. Se encontró que la "vacuna" había protegido a un porcentaje elevado de los ratones (fig. 21-11a). Se espera queuna vacuna semejante pueda prevenir las metástasis después de la remoción quirúrgica de un melanoma primario en pacientes humanos.

Como los antígenos del melanoma humano son compartidos por otros tumores diferentes, sería posible crear una serie de líneas celulares de melanoma transfectadas con B7 tipificadas

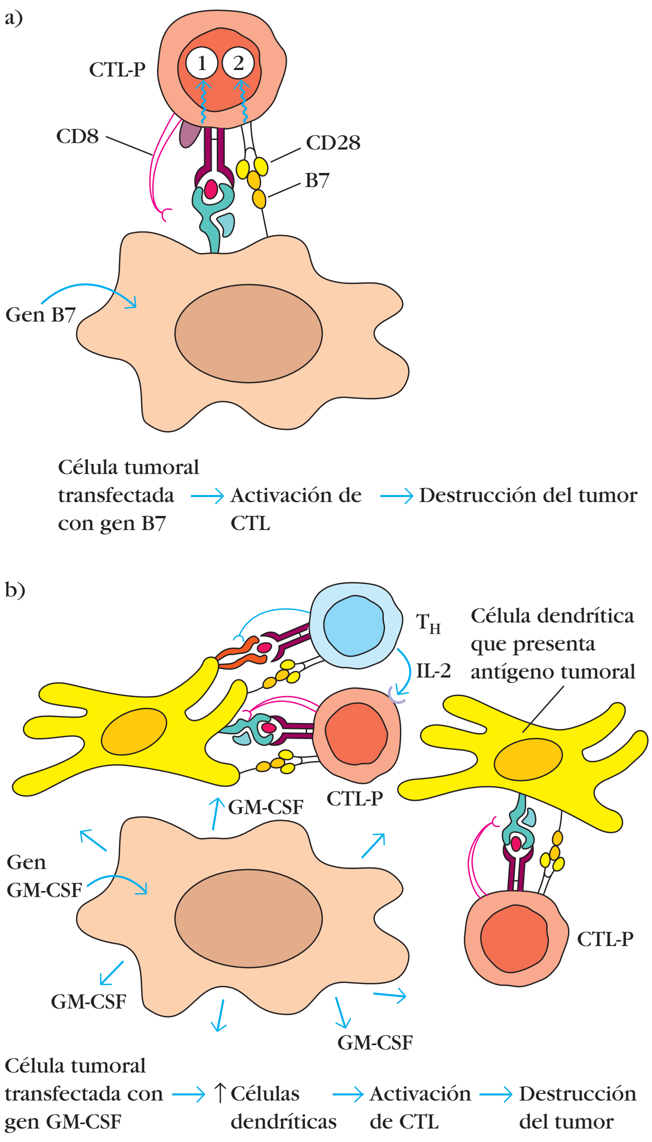

a)
CTL-P
1
2
CD8
CD28
B7
Gen B7
Célula tumoral transfectada con gen B7 → Activación de CTL → Destrucción del tumor
b)
T_H
Célula dendrítica que presenta antígeno tumoral
IL-2
GM-CSF
CTL-P
Gen GM-CSF
GM-CSF
GM-CSF
CTL-P
Célula tumoral transfectada con gen GM-CSF → ↑Células dendríticas → Activación de CTL → Destrucción del tumor

FIGURA 21-11 Empleo de células tumorales transfectadas para la inmunoterapia del cáncer. a) Las células tumorales transfectadas con el gen B7 expresan a la molécula coestimuladora B7, lo que les permite proporcionar una señal activadora (1) y una señal coestimuladora (2) a los CTL-P. Como resultado de las señales combinadas, los CTL-P se diferencian en CTL efectores, que pueden mediar la destrucción tumoral. En efecto, la célula tumoral transfectada actúa como célula presentadora de antígeno. b) La transfección de las células tumorales con el gen que codifica el GM-CSF permite a las células tumorales secretar concentraciones elevadas de este último factor. Esta citocina activa las células dendríticas de la proximidad del tumor y les permite presentar antígenos tumorales a las células T_H y los CTL-P.

para la expresión del antígeno tumoral así como del HLA. Bajo este criterio podrían determinarse el antígeno o los antígenos tumorales expresados por el tumor de un paciente y, a continuación, se administraría una vacuna con una línea de células transfectadas con B7 que expresara uno o más antígenos tumorales semejantes.

El incremento de la actividad de células presentadoras de antígeno puede modular la inmunidad tumoral

Se ha demostrado que las células dendríticas de ratón cultivadas en factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos (GM-CSF) e incubadas con fragmentos de tumor, que se suministran de nueva cuenta a los ratones, activan células T_H y CTL específicos de los antígenos tumorales. Cuando se administraron a los ratones cargas subsecuentes de células tumorales vivas, los animales manifestaron inmunidad contra el tumor. Estos experimentos han permitido crear una serie de medidas que tienen como finalidad ampliar la población de células presentadoras de antígeno, de modo que éstas puedan activar a su vez células T_H o CTL específicos de los antígenos tumorales.

Un método que se ha intentado es transfectar las células tumorales con el gen que codifica el GM-CSF. Estas células tumorales procesadas por ingeniería genética, cuando se readministran al paciente, secretan GM-CSF, con lo que aumentan la diferenciación y la activación de las células presentadoras de antígeno del hospedador, en particular las células dendríticas. A medida que estas células dendríticas se acumulan alrededor de las células tumorales, el GM-CSF secretado por estas últimas incrementa la presentación de antígenos a las células T_H y los CTL por las células dendríticas (fig. 21-11b).

Otra manera de expandir la población de células dendríticas consiste en cultivarlas a partir de las células progenitoras de la sangre periférica en presencia de GM-CSF, TNF-α e IL-4. Estas tres citocinas inducen la generación de grandes números de células dendríticas. Si se estimulan estas células con fragmentos tumorales, y a continuación se reintroducen en el paciente, podrían activar células T_H y T_C específicas para los antígenos tumorales. Que estas esperanzas estén justificadas se comprobará mediante investigaciones ulteriores.

Se han usado diversos coadyuvantes, entre ellos las cepas atenuadas de *Mycobacterium bovis* (conocidas como bacilo de Calmette-Guérin, BCG) y de *Corynebacterium parvuum*, para reforzar la inmunidad antitumoral. Estos auxiliares activan los macrófagos e incrementan su expresión de diversas citocinas, moléculas MHC clase II y molécula coestimuladora B7. Los macrófagos activados son mejores activadores de las células T_H y provocan incrementos generalizados de las reacciones humorales y mediadas por células. Hasta ahora, los coadyuvantes han arrojado tan sólo resultados terapéuticos discretos.

El tratamiento con citocinas puede acentuar las inmunorreacciones a los tumores

El aislamiento y la clonación de diversos genes de citocinas han facilitado su producción a gran escala. Se han desarrollado diversas técnicas experimentales y clínicas para emplear citocinas recombinantes, ya sea de forma aislada o combinadas, con el fin de aumentar la inmunorreacción contra el cáncer. Entre las citocinas que se han valorado en la inmunoterapia del cáncer se encuentran IFN-α, IFN-β e IFN-γ, IL-2, IL-4, IL-6 e IL-12, GM-CSF y TNF. Estos ensayos producen resultados alentadores ocasionales, y la IL-2 está aprobada para su uso sola o con otros agentes (como IFN-α) para cáncer renal avanzado y para melanoma metastásico.

El obstáculo más notable es la complejidad de la propia red de citocinas. Esta complejidad hace muy difícil conocer con exactitud la manera en que la intervención con una citocina recombinante determinada afecta la producción de otras. Y como algunas citocinas actúan de forma antagonista, es posible que la intervención con una citocina recombinante diseñada para estimular una rama particular de la reacción inmunitaria produzca en realidad supresión de ésta. Por consiguiente, la inmunoterapia con citocinas enfrenta el gran obstáculo de las dificultades para administrarlas de manera local. Se ha demostrado en algunos casos que el suministro de citocinas a dosis elevadas por vía general produce consecuencias graves y pone incluso en peligro la vida.

Interferones

Se dispone en la actualidad de grandes cantidades de preparados recombinantes purificados de los interferones, IFN-α, IFN-β e IFN-γ. De éstos, sólo el IFN-α está autorizado para tratar el cáncer en seres humanos, incluidos varios tipos de cáncer linfoide (leucemia de células pilosas, leucemia mielógena crónica, linfoma de células T cutáneas y linfoma no Hodgkin) y tumores sólidos como melanoma, sarcoma de Kaposi y cáncer renal.

La actividad antitumoral mediada por interferón puede abarcar diversos mecanismos. Se ha demostrado que los tres tipos de interferones acentúan la expresión de moléculas MHC clase I sobre las células tumorales; se ha visto también que el IFN-γ aumenta la expresión de MHC clase II sobre los macrófagos. En virtud de la comprobación de concentraciones disminuidas de moléculas MHC clase I sobre las células malignas, cabe considerar que los interferones pueden actuar restableciendo esta expresión y, por tanto, incrementar la actividad de los linfocitos citotóxicos contra los tumores. Además, los interferones inhiben in vitro la división celular de las células normales y transformadas en malignas. Es posible que algunos de los efectos antitumorales de los interferones se relacionen con esta capacidad de inhibir de modo directo la proliferación de las células tumorales. Por último, el IFN-γ aumenta de manera directa o indirecta la actividad de células T_C, macrófagos y células NK, todos los cuales intervienen en la reacción inmunitaria a las células tumorales.

Factores de necrosis tumoral

Se ha probado en algunos casos que los factores de necrosis tumoral TNF-α y TNF-β tienen actividad antitumoral directa al matar algunas células cancerosas y reducir la tasa de proliferación de otras sin afectar las células normales (fig. 21-12). En presencia de TNF-α o TNF-β, el tumor sufre necrosis hemorrágica y regresión visibles. Se ha demostrado además que el TNF-α inhibe la vascularización inducida por el tumor (angiogénesis) al dañar las células endoteliales de los vasos sanguíneos situados en la contigüidad del tumor, con lo que disminuye el flujo de sangre y oxígeno indispensable para el crecimiento tumoral progresivo.

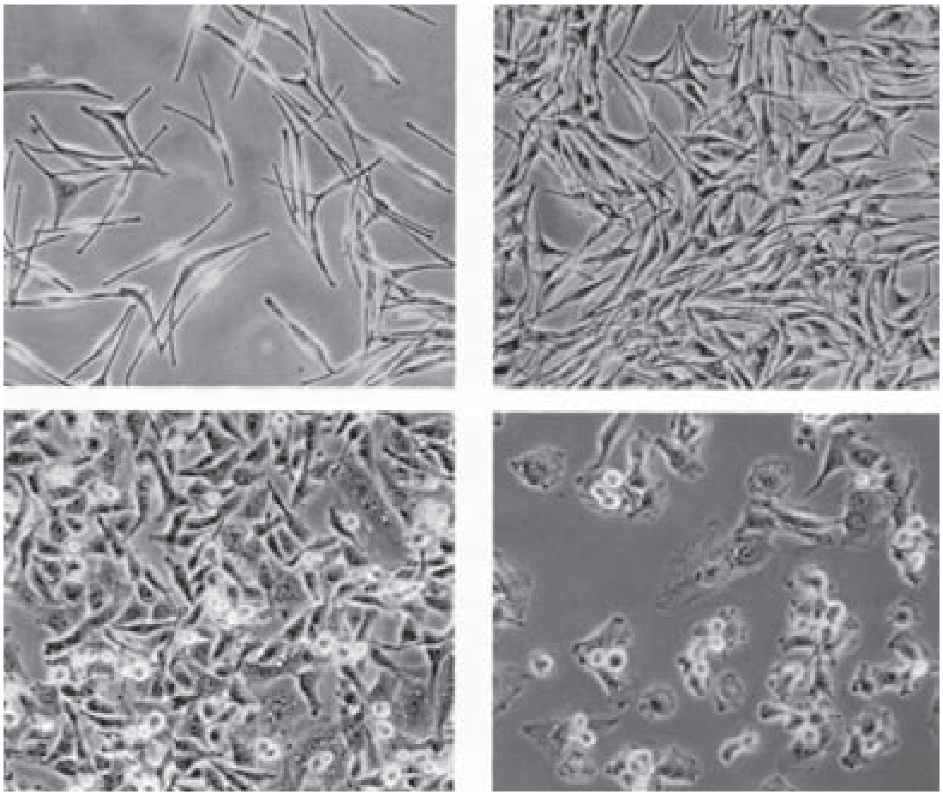


FIGURA 21-12 Micrografías de melanocitos normales cultivados (*arriba*) y células de melanoma canceroso cultivadas (*abajo*) en presencia (*izquierda*) y ausencia (*derecha*) de factor de necrosis tumoral (TNF-α). Obsérvese que, en presencia de TNF-α, las células cancerosas dejan de proliferar, en tanto que el TNF-α no tiene un efecto inhibidor sobre la proliferación de las células normales. *[Tomada de L. J. Old, 1988,* Scientific American ***258****(5):59.]*

CUADRO 21-4 Anticuerpos monoclonales aprobados para el tratamiento de cánceres del ser humano

Nombre	Aplicación	Año de aprobación
Rituximab	Linfoma no Hodgkin	1997
Trastuzumab	Cáncer mamario	1998
Gemtuzumab ozogamicina*	Leucemia mielógena aguda (AML)	2000
Alemtuzumab	Leucemia linfocítica crónica (CLL)	2001
Ibritumomab tiuxetan*	Linfoma no Hodgkin	2002
Tositumomab*	Linfoma no Hodgkin	2003
Cetuximab	Cáncer colorrectal, cánceres de cabeza y cuello	2004 2006
Bevacizumab	Cáncer colorrectal	2004

*Anticuerpos monoclonales conjugados

Los anticuerpos monoclonales son eficaces para tratar ciertos tumores

Se han utilizado anticuerpos monoclonales (MAb) de diversas maneras como agentes inmunoterapéuticos experimentales para el cáncer. En la actualidad están aprobados unos ocho MAb distintos para tratar diversos tipos de cáncer. En el cuadro 21-4 se enumeran los aprobados por la FDA y los cánceres para los cuales está autorizado su uso. Los MAb pueden ser “desnudos”, lo cual significa no modificados, o bien pueden estar conjugados con un agente que mejore su eficacia. Para tal conjugación se emplean toxinas, sustancias químicas y partículas radiactivas, las cuales son llevadas a la célula blanco por el anticuerpo.

En uno de los primeros éxitos del tratamiento con anticuerpos monoclonales, R. Levy y sus colaboradores trataron con buenos resultados a un varón de 64 años de edad que padecía un linfoma de células B terminal. En el momento del tratamiento el linfoma había metastizado hacia hígado, bazo, médula ósea y sangre periférica. Como era un cáncer de células B, el anticuerpo fijado a las membranas de todas las células cancerosas tenía el mismo idiotipo. Estos investigadores produjeron, a partir del procedimiento descrito en la figura 21-13, anticuerpo monoclonal murino específico para el idiotipo del linfoma B. Cuando se inyectó al individuo este anticuerpo monoclonal murino antiidiotípico, se fijó de manera específica a las células del linfoma B, toda vez que estas células expresaban ese idiotipo particular. Como las células del linfoma B son susceptibles a la lisis mediada por complemento, el anticuerpo monoclonal activó este sistema y produjo lisis de las células del linfoma sin dañar otras. Después de cuatro inyecciones con este anticuerpo monoclonal antiidiotípico, los tumores empezaron a contraerse y el paciente entró en un período inusualmente prolongado de remisión completa.

En fecha más reciente, Levy y colaboradores utilizaron inmunización directa para dirigir la actividad inmunitaria de los pacientes contra su linfoma de células B. En un estudio clínico con 41 sujetos que sufrían linfomas de células B, se aislaron los genes que codificaban la inmunoglobulina reordenada de los linfomas de cada paciente y se emplearon para codificar la síntesis de inmunoglobulina recombinante que tenía el idiotipo característico del tumor particular del enfermo. Cada una de estas Ig se acopló con hemocianina de lapa (KLH, del inglés *keyhole-limpet hemocyanin*), proteína de molusco que se usa a menudo como portadora por su reclutamiento eficiente de la ayuda de células T. Los pacientes se inmunizaron con sus propios antígenos específicos de tumor, las inmunoglobulinas únicas en cuanto a su idiotipo producidas por sus propios linfomas. Cerca del 50% de los individuos desarrolló anticuerpos antiidiotipo contra sus tumores. Es significativo que se observaron resultados clínicos mejorados en las 20 personas que sufrieron reacciones antiidiotipo, pero no en las demás. De hecho, dos de estas 20 experimentaron remisión completa.

Para un enfoque individualizado dirigido a idiotipos se requiere un reactivo específico para cada paciente de linfoma. Esto es prohibitivamente costoso y no puede usarse como un método terapéutico general para los miles de pacientes a los que cada año se diagnostica linfoma de células B. Un tratamiento con anticuerpos monoclonales más general para el linfoma de células B se basa en el hecho de que la mayor parte de estas células, sean normales o cancerosas, porta antígenos distintivos de su linaje. Por ejemplo, el anticuerpo monoclonal Rituximab, que ataca el marcador de células B CD20, se usa ampliamente para tratar el linfoma no Hodgkin.

Diversos tumores expresan concentraciones significativamente mayores de receptores de factores de crecimiento, que son blancos promisorios para el tratamiento con anticuerpos monoclonales antitumorales. Por ejemplo, en 25 a 30% de las mujeres que padece cáncer de mama metastásico, una alteración genética de las células tumorales causa un aumento de la expresión de HER2, receptor del tipo del factor de crecimiento epidérmico. Se ha elaborado y humanizado un anticuerpo monoclonal anti-HER2, y se administra en grandes cantidades (100 mg o más) para tratar cánceres mamarios que portan receptor de HER2.

Como ya se mencionó, algunos de los anticuerpos monoclonales en uso clínico se acoplan a isótopos radiactivos, agentes de quimioterapia o toxinas potentes de origen biológico. En tales tratamientos con “misiles dirigidos”, los agentes tóxicos se descargan de manera específica contra las células tumorales. Esto centra los efectos tóxicos en el tumor y deja indemnes los tejidos normales. Se han elaborado reactivos conocidos como **inmunotoxinas**

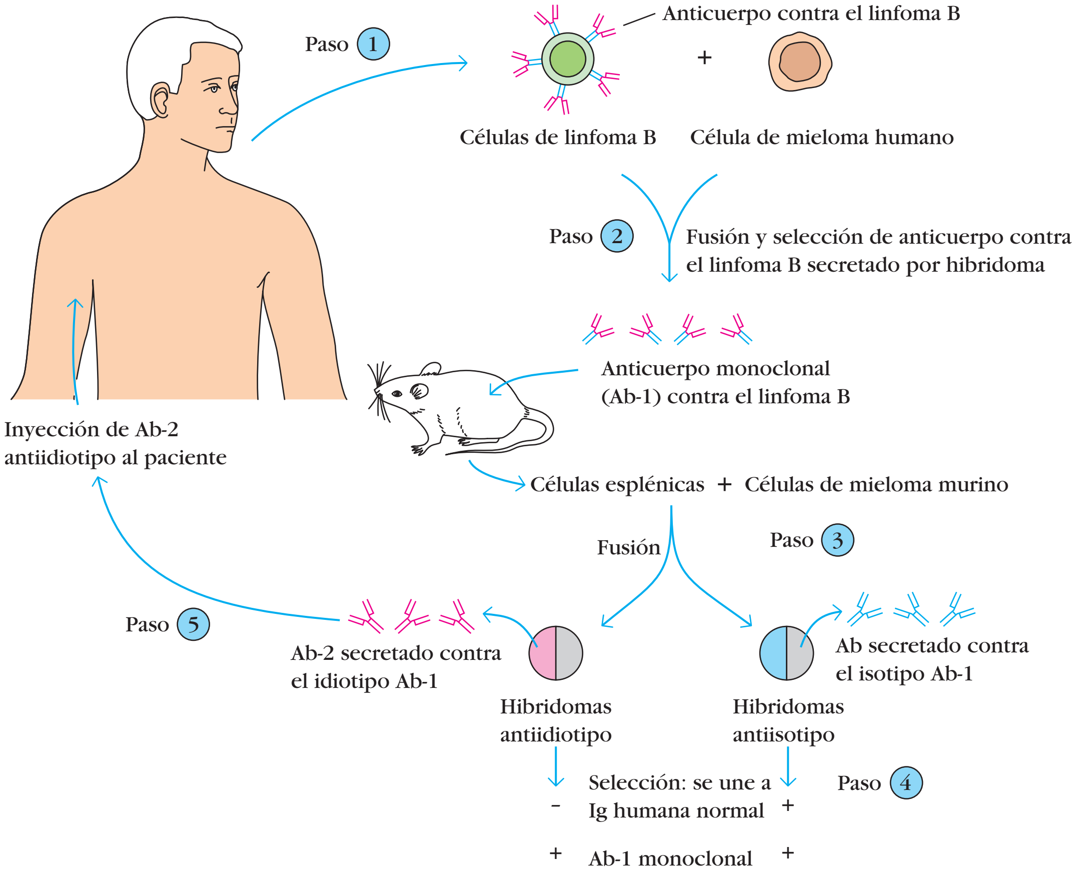

Paso ①
Anticuerpo contra el linfoma B
+
Células de linfoma B
Célula de mieloma humano
Paso ②
Fusión y selección de anticuerpo contra el linfoma B secretado por hibridoma
Anticuerpo monoclonal (Ab-1) contra el linfoma B
Inyección de Ab-2 antiidiotipo al paciente
Células esplénicas + Células de mieloma murino
Fusión
Paso ③
Paso ⑤
Ab-2 secretado contra el idiotipo Ab-1
Ab secretado contra el isotipo Ab-1
Hibridomas antiidiotipo
Hibridomas antiisotipo
Selección: se une a
Paso ④
–
Ig humana normal
+
+
Ab-1 monoclonal
+

FIGURA 21-13 Tratamiento del linfoma de células B con anticuerpo monoclonal específico para los determinantes idiotípicos en las células cancerosas. Como todas las células del linfoma se derivan de una sola célula B transformada, expresan el anticuerpo fijo a la membrana (Ab-1) con el mismo idiotipo (es decir, la misma especificidad antigénica). En el procedimiento ilustrado se produjo anticuerpo monoclonal antiidiotipo (Ab-2) contra el anticuerpo de membrana contra el linfoma B (pasos 1 a 4). Cuando se inyectó al paciente este anticuerpo antiidiotipo (paso 5) se unió de manera selectiva a las células de linfoma B, tras lo cual éstas fueron susceptibles a la lisis por complemento más anticuerpo.

mediante acoplamiento de la cadena inhibidora de una toxina (p. ej., toxina de la difteria) con un anticuerpo contra un antígeno específico del tumor o relacionado con éste. Estudios in vitro han demostrado que estas “balas mágicas” pueden matar las células tumorales sin dañar las normales. Se han valorado también inmunotoxinas específicas para los antígenos tumorales de diversos cánceres (p. ej., melanoma, carcinoma colorrectal, carcinoma mamario metastásico y diversos linfomas y leucemias) en estudios clínicos de fases I o II. En cierto número de estos estudios, cantidades significativas de pacientes con leucemia y linfoma manifestaron remisiones parciales o completas. No obstante, las reacciones clínicas de los sujetos con masas tumorales de mayor tamaño fueron desalentadoras. En unos cuantos de ellos, el tamaño del tumor puede hacer inaccesibles la mayor parte de sus células a la inmunotoxina.

RESUMEN

- Las células tumorales difieren de las normales por cambios en la regulación del crecimiento, lo cual les permite proliferar por tiempo indefinido, invadir a continuación los tejidos subyacentes y por último metastizar hacia otros tejidos.
- Las células normales pueden transformarse in vitro mediante carcinógenos físicos y químicos y por la acción de virus inductores de esta transformación. Las células transformadas manifiestan propiedades de crecimiento alteradas y en ocasiones son capaces de inducir cáncer cuando se inyectan a ciertos animales.
- Los protooncogenes codifican proteínas que participan en el control del crecimiento celular normal. La conversión de protooncogenes en oncogenes es una de las etapas clave en la inducción de la mayor parte de los cánceres humanos. Esta conversión puede ser resultado de mutación, transposición o amplificación de un oncogén.
- Se ha observado que se relacionan con protooncogenes leucemias y linfomas de células B y T diversos. En su nuevo sitio, el gen transpuesto puede quedar bajo la influencia de intensificadores o promotores que hacen que su transcripción se realice a niveles más elevados que los ordinarios.
- Las células tumorales ponen de manifiesto antígenos específicos de la neoplasia y antígenos relacionados con ella, más frecuentes. En contraste con los antígenos tumorales inducidos por sustancias químicas o radiación, todos los tumores

inducidos por el mismo virus comparten los antígenos tumorales codificados por éste.

- Los antígenos tumorales reconocidos por las células T corresponden a una de cuatro categorías principales: antígenos codificados por genes con expresión tumoral específica, antígenos codificados por formas variantes de genes normales que se han trastornado por mutación, ciertos antígenos expresados en condiciones normales sólo durante determinadas etapas de la diferenciación o en linajes de diferenciación específicos, y antígenos que se sobreexpresan en tumores particulares.
- La reacción inmunitaria al tumor incluye lisis mediada por CTL, actividad de células NK, destrucción tumoral mediada por macrófagos y destrucción mediada por ADCC. Diversos factores citotóxicos, entre ellos TNF-α y TNF-β, ayudan a mediar la destrucción de las células tumorales. Los tumores evaden la reacción inmunitaria por medio de distintas estrategias.
- La inmunoterapia experimental del cáncer valora hoy día diversos criterios terapéuticos. Algunos de ellos son aumento de la señal coestimuladora que se requiere para la activación de las células T, células tumorales sometidas a procesos de ingeniería genética para que secreten citocinas capaces de incrementar la intensidad de la reacción inmunitaria contra ellas, empleo terapéutico de citocinas, y formas de incrementar la actividad de las células presentadoras de antígeno.
- Los anticuerpos monoclonales están aprobados para su uso contra varios tipos de cáncer. Los anticuerpos se usan sin modificar o acoplados a toxinas, agentes de quimioterapia o elementos radiactivos.
- Elementos clave para el diseño de medidas de vacunación contra el cáncer son identificación de antígenos tumorales importantes, desarrollo de métodos para la presentación eficaz de los antígenos tumorales y generación de poblaciones activadas de células T colaboradoras y citotóxicas.

Bibliografía

Aisenberg, A. C. 1993. Utility of gene rearrangements in lymphoid malignancies. *Annual Review of Medicine* **44:**75.

Allison, J. P., A. A. Hurwitz, and D. R. Leach. 1995. Manipulation of costimulatory signals to enhance antitumor T-cell responses. *Current Opinion in Immunology* **7:**682.

Blattman, J. N., and P. D. Greenberg. 2004. Cancer immunotherapy: a treatment for the masses. *Science* **305:**200.

Berzofsky, J. A., et al. 2004. Progress on new vaccine strategies for the immunotherapy and prevention of cancer. *Journal of Clinical Investigation* **113:**1515.

Boon, T., P. G. Coulie, and B. Van den Eynde. 1997. Tumor antigens recognized by T cells. *Immunology Today* **18:**267.

Cohen, J. 2005. High hopes and dilemmas for a cervical cancer vaccine. *Science* **308:**618.

Coulie, P. G., et al. 1994. A new gene coding for a differentiation antigen recognized by autologous cytolytic T lymphocytes on HLA-A2 melanomas. *Journal of Experimental Medicine* **180:**35.

Houghton, A. N., J. S. Gold, and N. E. Blachere. 2001. Immunity against cancer: lessons learned from melanoma. *Current Opinion in Immunology* **13:**134.

Hsu, F. J., et al. 1997. Tumor-specific idiotype vaccines in the treatment of patients with B-cell lymphoma. *Blood* **89:**3129.

Kufe, D. W. 2000, Smallpox, polio and now a cancer vaccine? *Nature Medicine* **6:**252.

Paterson, Y., and G. Ikonomidis. 1996. Recombinant *Listeria monocytogenes* cancer vaccines. *Current Opinion in Immunology* **8:**651.

Sahin, U., O. Tureci, and M. Pfreundschuh. 1997. Serological identification of human tumor antigens. *Current Opinion in Immunology* **9:**709.

Schiffman, M., and P. E. Castle. 2005. The promise of global cervical-cancer prevention. *New England Journal of Medicine* **353:**2101.

Srivastava, S. 2002. Roles of heat-shock proteins in innate and adaptive immunity. *Nature Reviews Immunology* **2:**185.

Weinberg, R. A. 1996. How cancer arises. *Scientific American* **275**(3):62.

Sitios útiles de la red

http://www.oncolink.upenn.edu/

Oncolink es una página que ofrece amplia información sobre muchos tipos de cáncer. Es una buena fuente de información sobre la investigación de cáncer y los progresos de su tratamiento. Se actualiza con regularidad y contiene muchas referencias a otros recursos.

http://www.cancer.org/docroot/home/index.asp

Ésta es la página web de la American Cancer Society. Contiene abundante información sobre incidencia, tratamiento y prevención del cáncer. Pone de relieve además logros de gran importancia en la investigación de las enfermedades malignas.

http://www.cytopathnet.org/

Éste es un buen recurso para obtener información sobre el examen citológico de los tumores y sobre asuntos relacionados con los patrones de tinción típicos de las poblaciones celulares que se encuentran en diversos cánceres.

Preguntas de estudio

PREGUNTA DE ENFOQUE CLÍNICO ¿Por qué el cáncer de cuello uterino resulta un blanco probable para una vacuna capaz de prevenir las neoplasias? ¿Podría aplicarse a todos los tipos de cáncer el procedimiento que se investiga para el cáncer cervicouterino?

1. Indique si cada una de las afirmaciones que siguen es verdadera o falsa. Si cree que alguna es falsa, explique por qué.
    a. El retinoblastoma hereditario es resultado de sobreexpresión de un oncogén celular.
    b. Se encuentra transposición del gen *c-myc* en muchos pacientes que experimentan linfoma de Burkitt.
    c. En ocasiones se observan en las células cancerosas copias múltiples de oncogenes celulares.
    d. La integración vírica en el genoma celular puede convertir un protooncogén en oncogén transformador.
    e. Todos los retrovirus oncogénicos poseen oncogenes víricos.
    f. La reacción inmunitaria contra un tumor inducido por virus protege contra otro tumor inducido por el mismo virus.

2. Usted es un inmunólogo clínico que estudia la leucemia linfoblástica aguda (ALL). Las células leucémicas de la mayor parte de los pacientes con ALL tienen la morfología de los linfocitos, pero no expresan los marcadores de superficie celular característicos de las células B o T maduras. Usted ha aislado células de enfermos de ALL que no expresan Ig de membrana pero que reaccionan con anticuerpo monoclonal contra un marcador normal de células pre-B (B-200). Por este motivo, sospecha que estas células leucémicas son células pre-B. ¿De qué manera emplearía usted el análisis genético para confirmar que las células leucémicas están relacionadas con el linaje de células B?

3. En un experimento reciente se aislaron células de melanoma de pacientes que tenían este tumor maligno en etapas tempranas o avanzadas. Al mismo tiempo, se aislaron y clonaron de cada individuo células T específicas para el antígeno del toxoide tetánico.

    a. Cuando se cultivaron las células del melanoma de etapa temprana en conjunto con antígeno del toxoide tetánico y clonas de células T específicas de este toxoide, se observó que proliferaban las clonas. Esta proliferación quedó bloqueada al añadir cloroquina o anticuerpo monoclonal contra el antígeno HLA-DR, pero no cuando se añadió anticuerpo monoclonal contra HLA-A, HLA-B, HLA-DQ o HLA-DP. ¿Qué podrían indicar estas observaciones sobre las células de melanoma de etapa temprana en este sistema experimental?
    b. Cuando se repitió el mismo experimento en células de melanoma de etapa avanzada, las clonas de células T específicas del toxoide tetánico no proliferaron como reacción al antígeno de este toxoide. ¿Qué podría indicar esto sobre las células de melanoma de etapa avanzada?
    c. Cuando se fijaron células de melanoma maligno temprano y avanzado con paraformaldehído y se incubaron con toxoide tetánico procesado, sólo las células de melanoma de etapa temprana pudieron inducir proliferación de las clonas de células T específicas del toxoide tetánico. ¿Qué podría indicar esto sobre las células de melanoma de etapa temprana?
    d. ¿Cómo podría usted confirmar su hipótesis de manera experimental?

4. ¿Cuáles son tres probables fuentes de antígenos tumorales?

5. Se han valorado diversas citocinas para su empleo en la inmunoterapia de los tumores. Describa cuatro mecanismos por los que las citocinas median los efectos antitumorales y las citocinas que inducen cada tipo de efecto.

6. La administración intravenosa de células de melanoma transfectadas a pacientes con cáncer es una inmunoterapia promisoria.

    a. ¿Cuáles son los dos genes que se han transfectado en células de melanoma con esta finalidad? ¿Cuál es el razonamiento en que se basa el empleo de cada uno de estos genes?
    b. ¿Por qué podría el uso de estas células de melanoma transfectadas ser también eficaz para tratar otros tipos de cánceres?

7. Para cada una de las siguientes descripciones elija el término más apropiado:

Descripciones

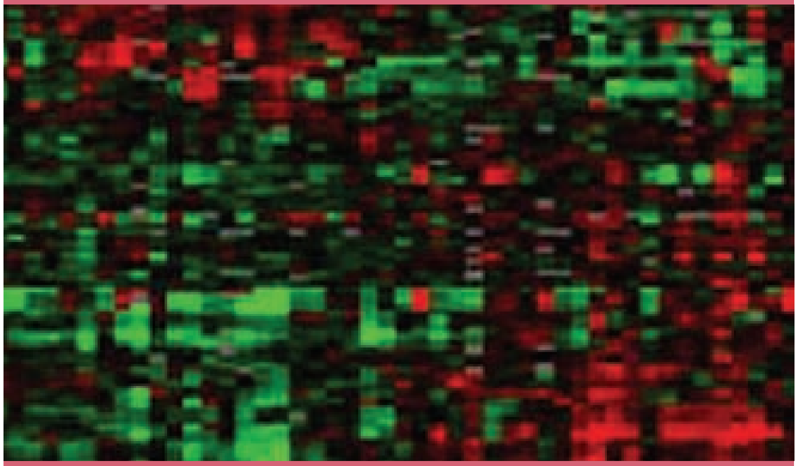
a. Un tumor maligno o benigno
b. Un tumor que se origina en tejido endodérmico
c. Un tumor surgido de tejido conectivo mesodérmico
d. Un tumor invasor que sigue creciendo
e. Células tumorales que se han separado del tumor original y se reproducen en una parte del cuerpo distinta
f. Un tumor no invasor
g. Un tumor originado en células linfoides
h. Un cambio permanente en el genoma de una célula, que da por resultado desarrollo anormal
i. Células cancerosas que se originan de células hematopoyéticas y no se convierten en un tumor sólido

Términos

1. Sarcoma
2. Carcinoma
3. Metástasis
4. Neoplasia
5. Maligno
6. Leucemia
7. Transformación
8. Linfoma
9. Benigno

capítulo 22

Sistemas experimentales



Perfil de expresión del linfoma difuso de células B grandes. [Tomado de L. M. Staudt, 2002, Annual Review of Medicine *53:303-318.]*

- Modelos animales experimentales
- Sistemas de cultivo celular
- Bioquímica de proteínas
- Tecnología de DNA recombinante
- Análisis de secuencias reguladoras de DNA
- Transferencia de genes a células de mamífero
- Microarreglos: método para analizar patrones de expresión génica
- Microscopia bifotónica para visualización in vivo del sistema inmunitario
- Avances en la tecnología de fluorescencia

Se emplean sistemas experimentales de diversos tipos para descifrar las interacciones celulares complejas de la reacción inmunitaria. Los sistemas in vivo, que están constituidos por el animal completo, ofrecen las condiciones experimentales más naturales. Sin embargo, estos sistemas tienen una miríada de interacciones celulares no identificadas y no controlables que añaden ambigüedad a la interpretación de los datos. En el otro extremo se encuentran los modelos in vitro, en los que se estudian poblaciones definidas de linfocitos bajo condiciones controladas que, por este motivo, se pueden repetir; los sistemas in vitro pueden simplificarse al grado de que permiten estudiar con eficacia diversas interacciones celulares individuales. No obstante, estos otros sistemas tienen también sus propias limitaciones, la más notable de las cuales es su artificialidad. Por ejemplo, proveer de antígeno a células B purificadas in vitro no estimula la producción máxima de anticuerpo, a menos que se encuentren presentes también células T. Por esta razón, el estudio de la producción de anticuerpo en un sistema in vitro artificial que carece de células T podría llevar a la conclusión incorrecta de que las células B no sintetizan anticuerpos en grandes cantidades. Es necesario preguntarse si una reacción celular observada in vitro refleja la realidad o es producto de las condiciones únicas del propio sistema.

En este capítulo se describen algunos de los sistemas experimentales que se emplean de manera cotidiana para estudiar el sistema inmunitario y se cubren algunas técnicas de DNA recombinante que han revolucionado el estudio del sistema inmunitario durante los dos últimos decenios. En otros capítulos se analizan también sistemas y técnicas experimentales en detalle. Se les enumera en el cuadro 22-1, que orienta al lector sobre el sitio apropiado para encontrar su descripción.

Modelos animales experimentales

El estudio del sistema inmunitario en los vertebrados requiere modelos animales adecuados. La elección de un animal depende de su idoneidad para llegar a una meta de investigación particular. Si se requieren grandes cantidades de antisuero, entre los animales de experimentación apropiados se encuentran conejo, cabra, oveja o caballo. Si la finalidad es el desarrollo de una vacuna protectora, el animal elegido debe ser susceptible al agente infeccioso para que pueda valorarse la eficacia de la vacuna. Es posible utilizar ratones o conejos para el desarrollo de vacunas si son susceptibles al agente patógeno. Pero si la proliferación del agente infeccioso está limitada al ser humano y los primates, el desarrollo de las vacunas puede requerir el uso de monos, chimpancés o babuinos.

Para la mayor parte de las investigaciones básicas en inmunología, los animales de experimentación preferidos han sido los ratones. Son fáciles de manipular, están bien caracterizados desde el punto de vista genético y tienen un ciclo de reproducción rápido. El sistema inmunitario del ratón se ha caracterizado con más amplitud que el de cualquier otra especie. Resulta evidente el valor que tiene la investigación básica en el sistema murino por el enorme efecto que ha tenido en la intervención clínica contra la enfermedad humana.

CUADRO 22-1 Métodos inmunológicos descritos en otros capítulos

Método	Localización
Trasplante de células madre	Enfoque clínico del cap. 2
Producción de anticuerpos monoclonales	Fig. 4-25
Ingeniería genética de anticuerpos monoclonales quiméricos de ratón y ser humano	Fig. 5-24 y enfoque clínico del cap. 5
Determinación de la afinidad de anticuerpo por diálisis de equilibrio	Fig. 6-2
Inmunodifusión e inmunoelectroforesis	Figs. 6-6 y 6-7
Hemaglutinación	Fig. 6-8
Radioinmunoensayo (RIA)	Fig. 6-9
ELISA	Fig. 6-10
ELISPOT	Fig. 6-11
Western blotting	Fig. 6-12
Inmunoprecipitación	Fig. 6-13
Inmunofluorescencia	Fig. 6-14
Citometría de flujo	Fig. 6-15
Reacción de linfocitos mixtos (MLR)	Figs. 14-16 y 17-4c
Linfólisis mediada por células (CML)	Fig. 14-17
Producción de vacuna con virus de la viruela bovina como vector	Fig. 19-8
Producción de vacunas subunitarias multivalentes	Fig. 19-6
Tipificación HLA	Fig. 17-4

Las cepas endogámicas pueden reducir la variación experimental

Para controlar la variación experimental causada por las diferencias en los antecedentes genéticos de los animales de experimentación, los inmunólogos trabajan a menudo con cepas endogámicas, esto es, con animales genéticamente idénticos producidos por cruzamiento de individuos emparentados. El breve ciclo de reproducción de los ratones los hace en particular adecuados para la producción de cepas endogámicas, que se desarrollan al cruzar de forma repetida a los hermanos con las hermanas de una misma camada. De esta manera, la heterocigosidad de alelos que normalmente se encuentra en los ratones que se cruzan de manera exogámica al azar es sustituida por homocigosidad en todos los loci. La reproducción endogámica repetida durante 20 generaciones suele dar por resultado una cepa endogámica cuyos descendientes son homocigotos en más de 98% del total de loci. Se dispone de unas 500 cepas endogámicas distintas de ratones, cada una denominada con una serie de letras, números o ambas cosas (cuadro 22-2). Los inmunólogos pueden comprar la mayor parte de las cepas a proveedores como *Jackson Laboratory* de Bar Harbor, Maine. Se han producido también cepas endogámicas de ratas, cobayos, cricetos (hámsters), conejos y aves domésticas. Como los miembros de una cepa endogámica de animales son idénticos en sentido genético (**singénicos**), sus reacciones inmunitarias pueden estudiarse en ausencia de las variables introducidas por las diferencias genéticas individuales, lo que constituye una propiedad de valor incalculable. En el caso de las cepas endogámicas, se pueden inyectar subpoblaciones de linfocitos de un animal a otro de la misma cepa sin desencadenar una reacción de rechazo. Los sistemas experimentales de este tipo permitieron a los inmunólogos demostrar por primera vez que los linfocitos de un animal cebado con un antígeno podían transferir la inmunidad a un receptor singénico no cebado.

Los sistemas de transferencia adoptivos permiten el examen in vivo de poblaciones de células aisladas

En algunos experimentos es importante eliminar la inmunorreactividad del hospedador singénico, de modo que sea posible estudiar de manera aislada la reacción de los linfocitos transferidos. Esto puede lograrse por una técnica denominada **transferencia adoptiva**: en primer lugar, el hospedador singénico se expone a radiación X para matar los linfocitos; luego se introducen las células inmunitarias del donador. Someter a un ratón a dosis elevadas de rayos X (650 a 750 rad) puede matar 99.99% de sus linfocitos, después de lo cual es posible estudiar, sin interferencia de los linfocitos del hospedador, las actividades de los linfocitos trasplantados desde el bazo de un donador singénico. Si existe la posibilidad de que las células hematopoyéticas del hospedador influyan en un experimento de transferencia adoptiva, se administran dosis más elevadas de rayos X (900 a 1 000 rad) para eliminar todo el sistema hematopoyético. Los ratones que han recibido estas dosis tan elevadas de radiación mueren, a menos que se reconstituya la médula ósea con la de un donador singénico.

El sistema de transferencia adoptiva ha permitido a los inmunólogos estudiar el desarrollo de células progenitoras del sistema linfoide inyectadas en diversos órganos del animal receptor y ha facilitado el estudio de varias poblaciones de linfocitos y de las interacciones celulares necesarias para generar una inmunorreacción. Estos experimentos, por ejemplo, permitieron a los inmunólogos demostrar de forma inicial que se requiere una célula T colaboradora para la activación de la célula B en la reacción humoral. En tales estudios, la transferencia adoptiva de células B o T purificadas no produjo anticuerpo en el hospedador radiado. Sólo cuando se transfirieron ambas poblaciones de células se produjo anticuerpo como reacción al antígeno.

Sistemas de cultivo celular

La complejidad de las interacciones celulares que generan una inmunorreacción ha hecho que los inmunólogos se basen con firmeza en diversos tipos de sistemas de cultivo celular in vitro. Pueden cultivarse variadas células, entre ellas células linfoides primarias, líneas de células linfoides clonadas y células híbridas.

Los cultivos de células linfoides primarias provienen de sangre u órganos linfoides

Los cultivos de células linfoides primarias se pueden obtener mediante aislamiento directo de linfocitos a partir de la sangre

CUADRO 22-2 Algunas cepas endogámicas de ratón empleadas a menudo en inmunología

Cepa	Subcepas frecuentes	Características
A	A/He A/J A/WySn	Incidencia elevada de tumores mamarios en algunas subcepas
AKR	AKR/J AKR/N AKR/Cum	Incidencia elevada de leucemia Alelo *Thy 1.2* en AKR/Cum y alelo *Thy 1.1* en otras subcepas (el gen *Thy* codifica una proteína de superficie de la célula T)
BALB/c	BALB/*cj* BALB/cAnN BALB/cBy	Sensibilidad a las radiaciones Se emplea en la tecnología de hibridomas Se generaron muchas líneas celulares de mieloma en estos ratones
CBA	CBA/J CBA/H CBA/N	Gen (*rd*) causante de degeneración retiniana en CBA/J Gen (*xid*) causante de la inmunodeficiencia ligada al sexo en CBA/N
C3H	C3H/He C3H/HeJ C3H/HeN	Gen (*rd*) causante de degeneración retiniana Incidencia elevada de tumores mamarios en muchas subcepas (éstas son portadoras de un virus de tumor mamario que se transmite por la leche de la madre a sus descendientes)
C57BL/6	C57BL/6J C57BL/6By C57BL/6N	Incidencia elevada de hepatomas después de radiación Actividad elevada del complemento
C57BL/10	C57BL/10J C57BL/10ScSn C57BL/10N	Relación muy estrecha con C57BL/6, pero diferencias al menos en dos loci Participante frecuente en la obtención de ratones congénicos
C57BR	C57BR/*cdj*	Frecuencia elevada de tumores hipofisarios y hepáticos Muy resistente a la radiación X
C57L	C57L/J C57L/N	Susceptibilidad a la encefalomielitis autoinmunitaria experimental (EAE) Frecuencia elevada de tumores hipofisarios y de células reticulares
C58	C58/J C58/LwN	Alta incidencia de leucemia
DBA/1	DBA/1J DBA/1N	Alta incidencia de tumores mamarios
DBA/2	DBA/2J DBA/2N	Baja reacción inmunitaria a algunos antígenos Baja reacción al polisacárido neumocócico del tipo III
HRS	HRS/J	Gen *hairless* (portador sin pelo) (*hr*), por lo general en el estado heterocigoto
NZB	NZB/BINJ NZB/N	Incidencia elevada de anemia hemolítica autoinmunitaria y nefritis del tipo del lupus Enfermedad autoinmunitaria semejante al lupus eritematoso sistémico (SLE) en descendientes F_1 de cruzas con NZW
NZW	NZW/N	Enfermedad autoinmunitaria del tipo del lupus en descendientes F_1 de cruzas con NZB
P	P/J	Alta incidencia de leucemia
SJL	SJL/J	Alto nivel de agresión y peleas graves al punto de producirse la muerte, sobre todo en machos Tendencia a desarrollar ciertas enfermedades autoinmunitarias, mayor susceptibilidad a la EAE
SWR	SWR/J	Tendencia a desarrollar diversas enfermedades autoinmunitarias, en especial EAE
129	129/J 129/SvJ	Alta incidencia de teratocarcinoma espontáneo

FUENTE: Con autorización de Federation of American Societies for Experimental Biology, *Biological Handbooks*, Vol. III: Inbred and Genetically Defined Strains of Laboratory Animals, 1979.

o la linfa, o bien de diversos órganos linfoides por dispersión tisular. Los linfocitos pueden cultivarse entonces en medio basal con composición química definida (que contiene solución salina, azúcares, aminoácidos, vitaminas, oligoelementos y otros nutrimentos) al que se añaden diversos suplementos séricos. En algunos experimentos se recurre a condiciones de cultivo libres de suero. Como las técnicas de cultivo in vitro requieren entre 10 y 100 veces menos linfocitos que las técnicas in vivo típicas, han permitido a los inmunólogos valorar las propiedades funcionales de subpoblaciones menores de linfocitos. Fue por medio de las técnicas de cultivo celular, por ejemplo, que los inmunólogos fueron capaces por primera vez de definir las diferencias funcionales entre las células T CD4$^+$ colaboradoras y las células T CD8$^+$ citotóxicas.

También se han usado técnicas de cultivo celular para identificar numerosas citocinas que participan en activación, crecimiento y diferenciación de diversas células que intervienen en la inmunorreacción. Los primeros experimentos demostraron que los medios acondicionados, o modificados, por el cultivo de diversos linfocitos o células presentadoras de antígeno favorecían el cultivo de otras células linfoides. Los medios acondicionados contienen los productos secretados por células que se reproducen de forma activa. Se han identificado y purificado muchas de las citocinas individuales que caracterizan diversos medios acondicionados, y en muchos casos se han clonado los genes que las codifican. En el capítulo 12 y en otros sitios se habla de estas citocinas, que desempeñan un papel central en la activación y la regulación de la reacción inmunitaria.

Las líneas celulares linfoides clonadas son herramientas importantes en inmunología

Un cultivo de células linfoides primarias está constituido por un grupo heterogéneo de células que se pueden propagar sólo por tiempo limitado. Esta heterogeneidad puede complicar la interpretación de los resultados experimentales. Para evitar estos problemas, los inmunólogos utilizan líneas de células linfoides clonadas y células híbridas.

Las células normales de mamífero tienen en general una vida finita en cultivo; esto es, después de cierto número de duplicaciones de la población, característico de la especie y el tipo celular, las células dejan de dividirse. En contraste, las células tumorales o las células normales que han experimentado **transformación** inducida por carcinógenos químicos o virus pueden propagarse por tiempo indefinido en cultivo tisular; éste es el motivo por el que se les ha denominado inmortales. Estas células se conocen como **líneas celulares**.

La primera línea de células, la de fibroblastos L murinos, se obtuvo en el decenio de 1940 a partir de tejido conectivo subcutáneo de ratón al exponer las células en cultivo a un carcinógeno químico, metilcolantreno, por un período de cuatro meses. En el decenio de 1950 se obtuvo otra línea celular importante, la HeLa, mediante cultivo de células de cáncer cervicouterino humano. Desde estos primeros estudios se han establecido cientos de líneas celulares, cada una consistente en una población de células idénticas desde el punto de vista genético (singénicas) que se pueden cultivar por tiempo indefinido.

En el cuadro 22-3 se señalan algunas de las líneas celulares que se emplean en la investigación inmunológica y se describen con brevedad sus propiedades. Algunas se derivaron de tumores de aparición espontánea de linfocitos, macrófagos y otras células accesorias participantes en la reacción inmunitaria. En otros casos, la línea celular se indujo por transformación de células linfoides normales con virus como el de la leucemia murina de Abelson (A-MLV), el virus 40 de los simios (SV40), el virus de Epstein-Barr (EBV) o el virus tipo 1 de la leucemia humana de células T (HTLV-1).

CUADRO 22-3 Líneas celulares empleadas a menudo en la investigación inmunológica

Línea celular	Descripción
L-929	Línea celular de fibroblastos murinos; utilizada con frecuencia en estudios de transfección de DNA y para someter a prueba el factor de necrosis tumoral (TNF)
SP2/0	Mieloma murino no secretor; usado a menudo como participante en la fusión para la secreción de hibridoma
P3X63-Ag8.653	Mieloma murino no secretor; suele emplearse como participante en la fusión para la secreción de hibridoma
MPC 11	Mieloma murino secretor de IgG2b
P3X63-Ag8	Mieloma murino secretor de IgG1
MOPC 315	Mieloma murino secretor de IgA
J558	Mieloma murino secretor de IgA
70Z/3	Linfoma murino de células pre-B; empleado para estudiar los sucesos incipientes en la diferenciación de las células B
BCL 1	Leucemia y linfoma murino de células B que expresan IgM e IgD de membrana y que pueden activarse con mitógeno para secretar IgM
CTLL-2	Línea de células T murina cuya proliferación depende de IL-2; con frecuencia se utiliza para investigar la producción de IL-2
Jurkat	Leucemia de células T del ser humano que secreta IL-2
DO11.10	Hibridoma de células T murinas con especificidad para la ovalbúmina
PU 5-1.8	Línea de monocitos y macrófagos murina
P338 D1	Línea de monocitos y macrófagos murina que secreta grandes concentraciones de IL-1
WEHI 265.1	Línea de monocitos murina
P815	Células de mastocitoma murinas; se emplean a menudo como blanco para valorar la destrucción producida por linfocitos T citotóxicos (CTL)
YAC-1	Células de linfoma murinas; se usan a menudo como blanco de las células NK
HL-60	Línea celular mieloide y leucémica del ser humano
COS-1	Células renales de mono verde africano transformadas por el SV40; se utilizan a menudo en estudios de transfección de DNA

Las líneas de células linfoides difieren de los cultivos de células linfoides primarias en diversos aspectos importantes: sobreviven por tiempo indefinido en cultivo tisular, manifiestan diversas propiedades de proliferación anormal y con frecuencia tienen un número también anormal de cromosomas. Se dice que las que poseen más o menos cromosomas del número diploide normal para una especie son aneuploides. La gran ventaja de las líneas de células linfoides clonadas consiste en que se pueden mantener durante períodos extendidos en cultivo tisular, lo que facilita a los inmunólogos obtener grandes números de células homogéneas en cultivo.

Hasta finales del decenio de 1970, los inmunólogos no habían logrado mantener células T normales en cultivo tisular durante períodos amplios. En 1978, un descubrimiento fortuito llevó a la observación de que se requería medio acondicionado que contuviera factor de crecimiento de células T. El componente esencial del medio acondicionado resultó ser la interleucina 2 (IL-2). Fue posible aislar clonas de linfocitos T específicos de antígeno al cultivar linfocitos T normales en presencia de IL-2. Estas clonas individuales pudieron propagarse y estudiarse en cultivo e incluso congelarse para conservarlas almacenadas. Después del recalentamiento estas clonas continuaron su crecimiento y la expresión de sus funciones específicas de antígeno originales.

El desarrollo de líneas celulares linfoides clonadas allanó el camino para que los inmunólogos estudiaran diversos sucesos que no era posible analizar con anterioridad. Por ejemplo, la investigación sobre los sucesos moleculares participantes en la activación de linfocitos vírgenes por antígeno era obstaculizada por la baja frecuencia de células B y T vírgenes específicas para ese antígeno particular; en una población heterogénea de linfocitos, los cambios moleculares que ocurren en una célula reactiva no podían detectarse contra un fondo de 10^3 a 10^6 células no reactivas. Las líneas de células T y B clonadas con especificidad antigénica conocida han puesto en manos de los inmunólogos grandes poblaciones de células homogéneas en las que es posible estudiar los sucesos participantes en el reconocimiento antigénico. De modo similar, los cambios genéticos correspondientes a distintas etapas de maduración pueden estudiarse en líneas celulares que parecen estar “congeladas” en distintas etapas de la diferenciación. Las líneas de células han sido también de utilidad para estudiar los factores solubles producidos por las células linfoides. Algunas líneas celulares secretan grandes cantidades de diversas citocinas; otras líneas expresan receptores de membrana para citocinas particulares. Los inmunólogos han utilizado estas líneas celulares para purificar diversas citocinas y sus receptores y, por último, clonar sus genes.

Las ventajas de las líneas de células linfoides traen aparejadas algunas limitaciones. Surgen de forma espontánea variantes durante el cultivo prolongado que requieren subclonación frecuente para limitar la heterogeneidad celular que podría desarrollarse. Si se seleccionan variantes en la subclonación, es posible que dos subclonas derivadas de la misma clona original representen poblaciones diferentes. Más aún, cualquier línea derivada de células tumorales o células transformadas puede tener contribuciones genéticas características del tumor o el estado transformado; por este motivo, los investigadores deben estar muy atentos al extrapolar los resultados obtenidos con líneas celulares a la situación normal in vivo. En todo caso, las líneas de células transformadas han hecho un gran aporte al estudio de la inmunorreacción, y se ha demostrado que en los linfocitos normales ocurren muchos sucesos moleculares descubiertos en los experimentos con líneas de células transformadas.

Creación de líneas de células linfoides híbridas

En la hibridación de células somáticas, los inmunólogos fusionan linfocitos B o T normales con células tumorales para obtener células híbridas, o heterocariotes, que contienen núcleos de ambas células progenitoras. La pérdida aleatoria de algunos cromosomas y la proliferación celular posterior tienen como resultado una clona de células que poseen un solo núcleo con cromosomas de cada una de las células fusionadas; esta clona se conoce como **hibridoma**.

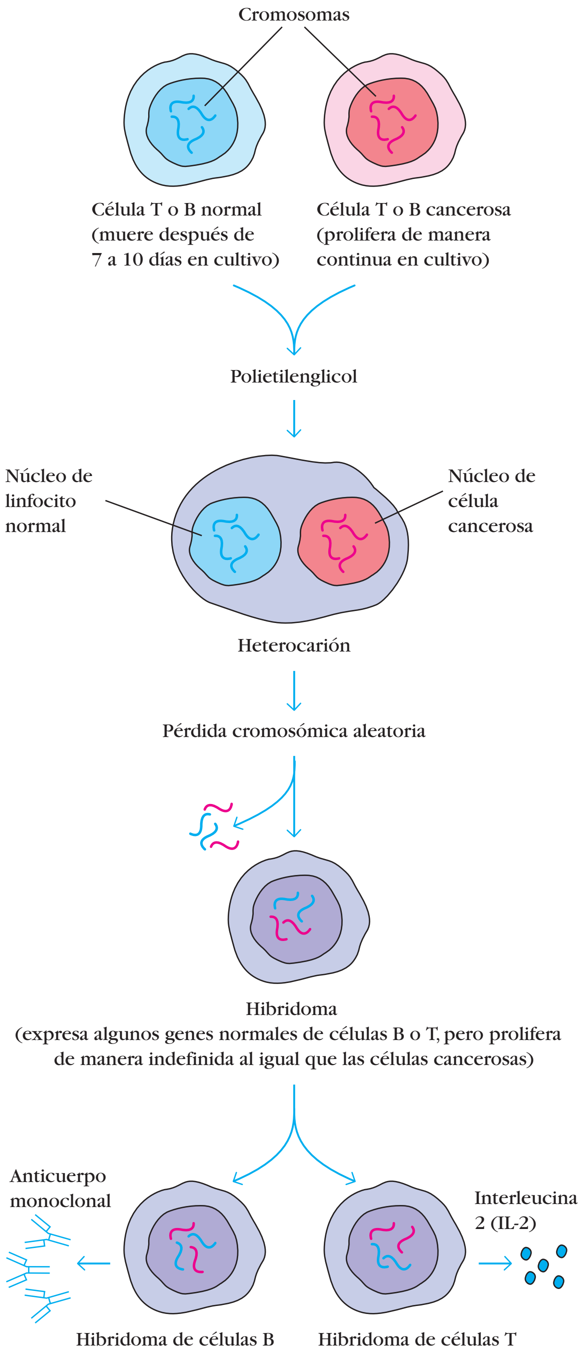

Cromosomas
Célula T o B normal (muere después de 7 a 10 días en cultivo)
Célula T o B cancerosa (prolifera de manera continua en cultivo)
Polietilenglicol
Núcleo de linfocito normal
Núcleo de célula cancerosa
Heterocarión
Pérdida cromosómica aleatoria
Hibridoma (expresa algunos genes normales de células B o T, pero prolifera de manera indefinida al igual que las células cancerosas)
Anticuerpo monoclonal
Interleucina 2 (IL-2)
Hibridoma de células B
Hibridoma de células T

FIGURA 22-1 Producción de hibridomas de células B y T mediante hibridación de células somáticas. Los hibridomas resultantes expresan algunos de los genes de las células B o T normales originales, pero también las propiedades de proliferación inmortal de la célula tumoral. Este procedimiento se emplea para producir hibridomas de células B que secretan anticuerpo monoclonal, e hibridomas de células T que secretan diversos factores del crecimiento.

Históricamente, la fusión celular se promovía con virus Sendai, pero en la actualidad se realiza casi siempre con polietilenglicol. Pueden fusionarse células B normales cebadas con antígeno y células plasmáticas cancerosas, llamadas **células de mieloma** (fig. 22-1). El hibridoma formado de esta manera continúa expresando los genes de anticuerpo del linfocito B normal, pero es capaz de multiplicarse de manera ilimitada, lo que es una característica de la célula del mieloma. Los hibridomas de células B que secretan anticuerpo con una sola especificidad antigénica, llamado anticuerpo monoclonal por provenir de una sola clona, han revolucionado no sólo la inmunología sino también la investigación biomédica y los estudios de laboratorio clínico. En el capítulo 4 se describen con detalle la producción y las aplicaciones de los anticuerpos monoclonales (fig. 4-25).

Los hibridomas de células T pueden obtenerse también fusionando linfocitos T normales y de linfoma maligno, como los del timoma murino, BW5147. Una vez más, el hibridoma resultante prosigue la expresión de los genes de la célula T normal, pero adquiere las propiedades de inmortalidad de la célula T del linfoma maligno. Los inmunólogos han generado diversas líneas celulares de hibridoma estables que representan linajes de células T colaboradoras y células T citotóxicas.

Bioquímica de proteínas

Se han identificado las estructuras y las funciones de muchas moléculas importantes del sistema inmunitario con técnicas de bioquímica de proteínas, y muchas de estas técnicas se aplican de manera constante en la inmunología experimental. Por ejemplo, los marcadores fluorescentes y radiactivos permiten a los inmunólogos localizar y visualizar actividades moleculares, y la capacidad de determinar características bioquímicas de una proteína, como tamaño, forma y estructura tridimensional, ha suministrado información esencial para comprender las funciones de moléculas importantes desde el punto de vista inmunológico.

Las técnicas de radiomarcado permiten la identificación sensible de antígenos o anticuerpos

Las marcas radiactivas en antígenos o anticuerpos son en extremo sensibles para identificación y cuantificación. Son varias las maneras de introducir isótopos radiactivos en proteínas o péptidos. Por ejemplo, se pueden marcar residuos tirosina con yodo radiactivo mediante procedimientos químicos o enzimáticos. Estas reacciones insertan un átomo de yodo en el anillo fenólico de la molécula de tirosina. Una de las técnicas de yodación enzimática, en la que se emplea lactoperoxidasa, permite marcar proteínas en la membrana plasmática de una célula viva sin hacerlo con las contenidas en el citoplasma, lo que hace posible estudiar las proteínas de la superficie celular sin aislarlas de los otros constituyentes de la célula.

Puede llevarse a cabo un radiomarcado general de las proteínas celulares si las células se cultivan en un medio que contenga uno o más aminoácidos radiomarcados. Los aminoácidos seleccionados para esta aplicación son los más resistentes a la modificación metabólica durante el desarrollo celular, de modo que la marca radiactiva aparece en la proteína celular y no en todos los constituyentes de la célula. La leucina marcada con ^{14}C o ^{3}H y la cisteína o la metionina marcadas con ^{35}S son los aminoácidos usados más a menudo para el marcado metabólico de las proteínas. En el cuadro 22-4 se indican algunas propiedades de los radioisótopos utilizados en la investigación inmunológica.

CUADRO 22-4 Radioisótopos usados con frecuencia en los laboratorios de inmunología

Isótopo	Vida media	Tipo de radiación*	Autorradiografía†
^{125}I	60.0 días	γ	+
^{131}I	6.8 días	γ	+
^{51}Cr	27.8 días	γ	–
^{32}P	14.3 días	β	+
^{35}S	87.4 días	β	+
^{14}C	57.30 años	β	+
^{3}H	12.35 años	β	–

*La radiación γ puede detectarse y medirse con un contador sólido de centelleo. La radiación β se identifica en un contador líquido de centelleo por su capacidad de convertir la energía en fotones en una solución que contiene compuestos fosforescentes.

†La radiación puede detectarse también mediante exposición a una película de rayos X. ^{35}S y ^{14}C deben colocarse en contacto directo con la película para detectarse. El ^{3}H no puede detectarse por técnicas autorradiográficas ordinarias.

Las marcas de biotina facilitan la detección de pequeñas cantidades de proteínas

En algunos casos el marcado directo de las proteínas, de manera particular con enzimas u otras grandes moléculas, como se describió en el capítulo 6, puede producir desnaturalización y pérdida de la actividad de aquéllas. Se ha desarrollado un sistema de marcado conveniente que puede usarse en conjunto con las técnicas ELISA y ELISPOT, que se describieron en el capítulo 6. Esta técnica de marcado aprovecha la elevada afinidad de la reacción entre la vitamina llamada biotina y la avidina, gran molécula que puede marcarse con isótopos radiactivos, moléculas fluorescentes o enzimas. La biotina es una molécula pequeña (244 Da) que se puede acoplar a un anticuerpo (o a cualquier molécula proteínica) mediante una reacción química suave que no produce pérdida de la actividad de anticuerpo. Después que el complejo de biotina y anticuerpo reacciona en el sistema en estudio, se introduce la avidina marcada y se mide su fijación detectando la marca sobre la molécula de avidina (fig. 22-2). Esta reacción entre la biotina y la avidina es muy específica, y de afinidad tan grande que el enlace establecido entre ambas moléculas es virtualmente irreversible bajo la mayor parte de las condiciones de estudio.

La electroforesis en gel separa las proteínas por tamaño y carga

Cuando se somete a un campo eléctrico en una cámara de electroforesis, una molécula cargada se desplaza hacia el electrodo de carga opuesta. La rapidez con que una molécula cargada se

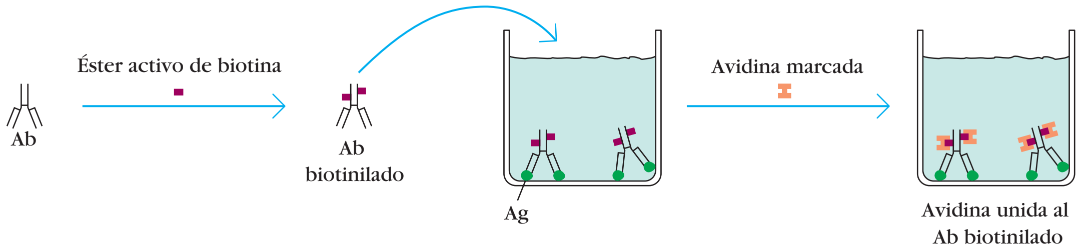
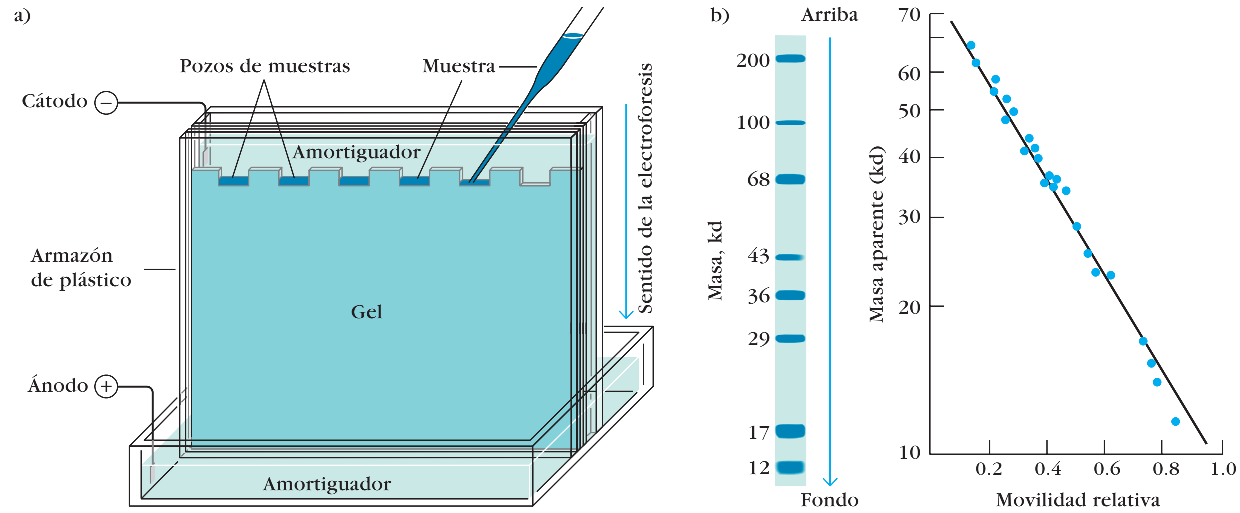

Éster activo de biotina
Ab
Ab
biotinilado
Ag
Avidina marcada
Avidina unida al
Ab biotinilado

FIGURA 22-2 Marcación de un anticuerpo con biotina. Se mezcla un preparado de anticuerpo con un éster de biotina, que reacciona con el anticuerpo. El anticuerpo marcado con biotina puede utilizarse para identificar antígenos sobre un sustrato sólido, como el pozo de una placa de microtitulación. Después de eliminar por lavado el anticuerpo que no se fijó, es posible identificar el que sí lo hizo con avidina marcada. La avidina puede marcarse de manera radiactiva o enlazarse con una enzima que cataliza una reacción de color, como se hace en los procedimientos de ELISA (véase también la fig. 6-10).

desplaza en un campo estable (su movilidad electroforética) depende de dos factores específicos de la molécula: uno consiste en el signo y la magnitud de su carga eléctrica neta, y el otro está constituido por su tamaño y forma. Si se mantienen iguales todos los demás factores, cuando las moléculas son de igual tamaño, la que tenga carga neta más elevada se desplaza con mayor rapidez por el campo eléctrico formado a causa de las propiedades de cribado molecular del medio sólido. Cabe concluir que las moléculas pequeñas se desplazan con más rapidez que las grandes con la misma carga neta. Aunque existen excepciones en las que la forma de una molécula puede incrementar o disminuir su arrastre friccional y causar una conducta de migración atípica, estos principios generales subyacen a todas las separaciones electroforéticas.

En su mayor parte, las separaciones electroforéticas no se realizan en solución libre sino en un medio de soporte estable, como un gel. El más usado en laboratorios de investigación es una forma de acrilamida polimerizada y con enlaces cruzados. Para el análisis de proteínas o ácidos nucleicos puede emplearse la separación en geles de poliacrilamida, conocida a menudo


a)
Pozos de muestras
Muestra
Cátodo ⊖
Amortiguador
Armazón
de plástico
Gel
Ánodo ⊕
Amortiguador
Sentido de la electroforesis
b)
Arriba
200
100
68
43
36
29
17
12
Masa, kd
Fondo
70
60
50
40
30
20
10
Masa aparente (kd)
0.2
0.4
0.6
0.8
1.0
Movilidad relativa

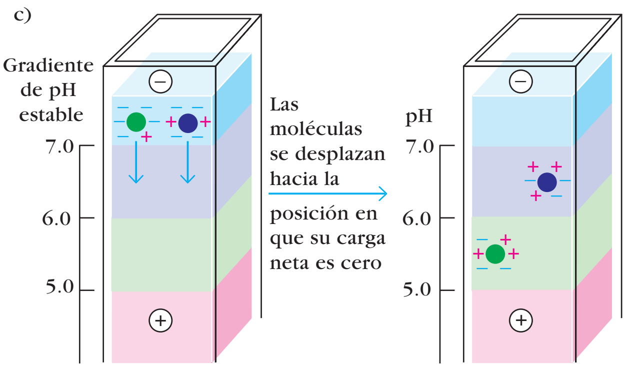

c)
Gradiente
de pH
estable
7.0
6.0
5.0
Las
moléculas
se desplazan
hacia la
posición en
que su carga
neta es cero
pH
7.0
6.0
5.0

FIGURA 22-3 Electroforesis en gel. a) Aparato PAGE estándar con el cátodo en la parte superior y el ánodo en la inferior. Las muestras se cargan en la parte alta del gel en pozos formados para ese fin, y la electroforesis se lleva a cabo al hacer pasar una corriente desde el cátodo hacia el ánodo. b) La movilidad electroforética, o distancia recorrida por una especie durante el procedimiento SDS-PAGE, es inversamente proporcional al logaritmo de su peso molecular. El peso molecular de una proteína se determina con facilidad con base en el logaritmo de su distancia de migración usando una curva estándar de distancias de migración del grupo de proteínas estándares contra los logaritmos de sus pesos moleculares. c) El enfoque isoeléctrico, o IEF, separa las proteínas sólo conforme a su carga. Las proteínas se colocan en un gradiente de pH estable y se someten a electroforesis. Cada proteína se desplaza hacia su punto isoeléctrico, en el cual la carga neta es cero. *[Parte b tomada de K. Weber y M. Osborn, 1975,* The Proteins, *3rd ed., vol. 1, Academic Press, p. 179.]*

como PAGE (del inglés *poliacrylamide gel electrophoresis*, electroforesis en gel de poliacrilamida) (fig. 22-3a).

En una aplicación frecuente, la electroforesis de las proteínas a través de un gel de poliacrilamida se realiza en presencia del detergente dodecilsulfato de sodio (**SDS**, del inglés *sodium dodecyl sulfate*). Este método, que se conoce como SDS-PAGE, ofrece un medio relativamente simple y muy eficaz para separar las mezclas de proteínas según el tamaño de éstas. El SDS es un detergente con carga negativa que fija las proteínas en cantidades proporcionales a su longitud. Esta fijación destruye la estructura terciaria y secundaria característica de la proteína y la transforma en un bastoncillo de carga negativa. Una proteína se fija a tantas moléculas de SDS de carga negativa que su propia carga intrínseca se vuelve insignificante en comparación con la carga neta de las moléculas de SDS. Por este motivo, el tratamiento de una mezcla de proteínas con SDS transforma los componentes de esta mezcla en un cúmulo de bastoncillos cuyas cargas eléctricas son proporcionales a sus pesos moleculares. Esto tiene dos consecuencias en extremo importantes. En primer lugar, es posible separar los componentes de una mezcla de proteínas según sea su peso molecular. En segundo lugar, como la movilidad electroforética (o distancia recorrida por una proteína determinada durante el procedimiento SDS-PAGE) es inversamente proporcional al logaritmo de su peso molecular, esa distancia es una medida de su peso molecular. Para visualizar las localizaciones de las proteínas, el gel se tiñe con un colorante que reacciona con ellas. La distancia de migración de una proteína determinada se compara entonces con una gráfica de las distancias recorridas por un grupo de proteínas estándar (fig. 22-3b).

Otra técnica electroforética, llamada enfoque isoeléctrico (**IEF**, del inglés *isoelectric focusing*), separa las proteínas sólo por su carga. Este método se basa en el hecho de que una molécula se mueve en un campo eléctrico mientras conserve una carga positiva o negativa neta; no se mueven las moléculas que tienen números iguales de cargas positivas y negativas (carga neta de cero). A la mayor parte de los valores de pH, las proteínas (que de manera característica portan cierto número de cargas positivas y negativas) poseen una carga neta negativa o positiva. Sin embargo, para cada proteína existe un pH particular, denominado punto isoeléctrico (pI), al que la proteína tiene números iguales de cargas positivas y negativas. El enfoque isoeléctrico se vale de un gel que contiene sustancias, llamadas anfolitos portadores, que se distribuyen en un gradiente de pH continuo cuando se someten a un campo eléctrico. Cuando se coloca una mezcla de proteínas en ese gel y se somete a electroforesis, cada proteína se desplaza hasta llegar al punto del gradiente en el que el pH del gel es igual a su punto isoeléctrico. Entonces deja de moverse porque su carga neta es de cero. El enfoque isoeléctrico es una manera extremadamente suave y eficaz de separar diferentes proteínas (fig. 22-3c).

Un método conocido como electroforesis bidimensional en gel (electroforesis 2D en gel) combina las ventajas del SDS-PAGE y el enfoque isoeléctrico en una de las técnicas más sensibles de analizar una mezcla de proteínas. En este método se somete primero la mezcla a enfoque isoeléctrico en un tubo de gel especial, que separa las moléculas con base en sus puntos isoeléctricos sin tomar en consideración el peso molecular. Ésta es la primera dimensión. En el siguiente paso se coloca el gel de IEF a lo largo de la parte alta de una placa de SDS y poliacrilamida (esto es, en el sitio de los pozos de muestras en la fig. 22-3a) y se efectúa el procedimiento SDS-PAGE. En preparación para este paso, todas las proteínas se han hecho reaccionar con SDS, de modo que migran hacia el exterior del gel de IEF y a través de la placa de SDS-PAGE de conformidad con sus pesos moleculares. Ésta es la segunda dimensión. La posición de las proteínas en el gel 2D resultante puede visualizarse de diversas maneras. En la menos sensible, el gel se tiñe con un colorante que se une a proteínas (como el azul de Coomassie). Si se han radiomarcado las proteínas, puede aplicarse el método más sensible de autorradiografía. De manera alternativa, la coloración argéntica es un método de gran sensibilidad en el que se aprovecha la capacidad de las proteínas de reducir los iones plata a un depósito de plata metálica, fácil de visualizar. Por último, se puede utilizar la técnica de inmunoblot, en la cual se depositan manchas de proteínas sobre una membrana y se les identifica mediante anticuerpo (fig. 6-12), a fin de localizar la posición de proteínas específicas en geles 2D si se dispone del anticuerpo apropiado. La figura 22-4 es una autorradiografía bidimensional de proteínas marcadas de timocitos murinos en gel.

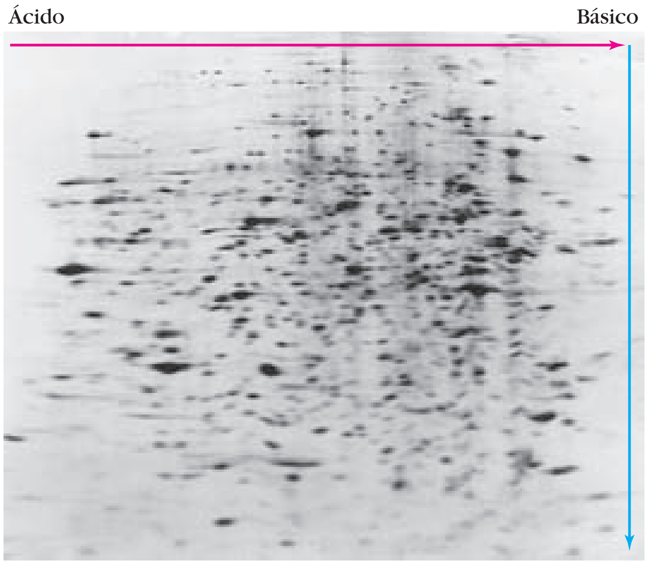


FIGURA 22-4 Electroforesis bidimensional en gel de proteínas celulares totales marcadas con ^{35}S-metionina de timocitos murinos. Estas proteínas se sometieron primero a enfoque isoeléctrico (el sentido de la migración es indicado por la flecha roja) y luego las proteínas enfocadas se separaron mediante SDS-PAGE (el sentido de la migración es indicado por la flecha azul). El gel expuso una película de rayos X para indicar las proteínas marcadas. *[Cortesía de B. A. Osborne.]*

La cristalografía de rayos X ofrece información estructural

Se ha obtenido gran cantidad de información sobre la estructura de las células, algunos componentes de éstas e incluso moléculas mediante microscopia óptica. El microscopio cuenta con una lente para enfocar la radiación, la cual forma una imagen después de pasar por el espécimen. Sin embargo, una limitación práctica de la microscopia óptica es la capacidad de resolución. La radiación de una longitud de onda determinada no puede resolver aspectos estructurales con tamaño menor de la mitad de su longitud de onda. Como la longitud de onda más corta de la luz visible es de unos 400 nm, incluso los microscopios ópticos de máxima calidad tienen un límite teórico de resolución no menor de 200 nm.

Como consecuencia de la longitud de onda mucho más corta (0.004 nm) del electrón a los voltajes empleados normalmente en el microscopio electrónico, el límite teórico de resolución de este aparato es de alrededor de 0.002 nm. Si fuera posible construir un instrumento que se aproximara en realidad a este límite, el microscopio electrónico podría usarse con facilidad para determinar la distribución atómica detallada de las moléculas biológicas, ya que los átomos constituyentes están separados por distancias de 0.1 a 0.2 nm. En la práctica, las aberraciones inherentes a la operación de las lentes magnéticas que se emplean para visualizar el haz de electrones limitan la resolución a cerca de 0.1 nm (1 Å). Se puede llegar a este límite práctico cuando se examinan ciertos ejemplares, en particular metales. Sin embargo, otras consideraciones, como preparación y contraste del ejemplar, limitan la resolución de los materiales biológicos a unos 2 nm (20 Å). Así, para determinar la distribución de los átomos de una molécula, es necesario recurrir a los rayos X, forma de radiación electromagnética que se genera con facilidad en longitudes de onda del orden de tamaño de las distancias interatómicas. Aunque no se cuenta con microscopios provistos con lentes que permitan enfocar los rayos X para convertirlos en imágenes, la cristalografía de rayos X puede revelar la estructura molecular a un nivel extraordinariamente detallado.

La cristalografía de rayos X se basa en el análisis del patrón de difracción que se produce al dispersar un haz de rayos X cuando pasa por un cristal. El grado en que un átomo en particular dispersa los rayos X depende de su tamaño. Átomos como carbono, oxígeno o nitrógeno dispersan más los rayos X que los átomos de hidrógeno, en tanto que los átomos de mayor tamaño como los de hierro, yodo o mercurio producen gran dispersión. Los rayos X son una forma de las ondas electromagnéticas; a medida que las ondas dispersadas se superponen, interfieren y se refuerzan entre sí de manera alternativa. Un detector colocado de manera apropiada registra un patrón de manchas (patrón de difracción) en el cual la distribución y las intensidades dependen de la estructura del cristal de difracción. Esta relación entre la estructura del cristal y el patrón de difracción es la base del análisis cristalográfico de rayos X. La siguiente es una revisión general de los procedimientos empleados:

Obtención de cristales de la proteína de interés. Para quienes no han experimentado las frustraciones de la cristalización de proteínas, ésta podría parecer una etapa trivial e incidental de un proceso por lo demás muy especializado. No lo es. Existen grandes variaciones de una proteína a otra en las condiciones requeridas para producir cristales que tengan el tamaño y la configuración geométrica apropiados para el análisis por difracción de rayos X. Por ejemplo, la mioglobina forma cristales durante el transcurso de varios días a pH 7 en una solución 3 M de sulfato de amonio, pero el sulfato de amonio 1.5 M a pH 4 funciona bien para la IgG1 humana. No existe una fórmula establecida que pueda aplicarse, y quienes logran buenos resultados sostenidos son persistentes, determinados y, como los grandes cocineros, tienen un toque para hacer la "salsa" adecuada.

Selección y montaje. Los ejemplares cristalizados deben tener por lo menos 0.1 mm en su dimensión más pequeña y de manera habitual no exceder de unos cuantos milímetros en cualquiera de sus otras dimensiones. Una vez elegido, el cristal se coloca en el interior de un tubo capilar acompañado de solución en la que se desarrolló ("licor madre"). Esto evita que el cristal sufra desecación y preserva su contenido de solventes, consideración importante para mantener el orden interno del ejemplar. El capilar se monta entonces en el aparato de difracción.

Generación y registro de un patrón de difracción. El cristal colocado de manera precisa se radia con rayos X de longitud de onda conocida producidos por electrones acelerados contra el blanco de cobre de un tubo de rayos X. Cuando el haz de rayos X choca contra el cristal, algunos de sus componentes prosiguen en línea recta en tanto que otros se diseminan; detectores sensibles registran la posición y la intensidad del haz diseminado como un patrón de puntos (fig. 22-5a, b).

Interpretación del patrón de difracción. La parte medular del análisis de difracción es la deducción matemática de la estructura detallada que produciría el patrón de difracción observado. Es indispensable calcular el grado al que las ondas dispersadas por cada átomo se han combinado para reforzarse o cancelarse entre sí y producir la intensidad neta de cada punto en la dispersión. Surgen dificultades para interpretar los patrones de difracción complejos porque las ondas no están en fase, esto es, sus máximos y mínimos no coinciden. Como el patrón observado es el resultado neto de la interacción de muchas ondas, es de importancia crítica la información sobre la fase para calcular la distribución de las densidades electrónicas que causa ese patrón. Resolver este "problema de fase" es un obstáculo mayor para deducir una estructura de alta resolución de cualquier molécula compleja.

El problema se resuelve modificando la proteína por la adición de átomos pesados, como los del mercurio, para obtener cristales que tengan la misma geometría que los que constituyen la proteína no modificada (es decir, son isomorfos con ella). Se obtiene el patrón de difracción del cristal isomorfo y se compara con el de la proteína nativa. Por lo general, si conoce los patrones de difracción de dos o más derivados isomorfos con átomos pesados, el investigador puede calcular las fases de la proteína nativa por referencia a los patrones de difracción característicos generados por las marcas clave de los átomos pesados. Una vez establecidas las fases, es posible pasar al cálculo de la distribución de la densidad de electrones. Esto se logra mediante la síntesis de Fourier, tratamiento matemático especialmente adecuado para el análisis de los fenómenos periódicos como aquéllos en los que participan ondas. En este caso se emplea para calcular la distribución de la densidad de electrones a lo largo de los ejes x, y y z dentro de una celda unitaria del cristal. La densidad electrónica deducida puede visualizarse entonces con una computadora (fig. 22-5c).

Deducción de la estructura. La resolución de un modelo depende de diversos factores. Antes que nada, se establece la máxima resolución final posible con base en la calidad del cristal y su orden interno. Incluso los cristales de más alta calidad más elevada tienen cierto grado de desorden interno que establece un límite de resolución de unos 2 Å. En segundo lugar, un factor de capital importancia es el número de intensidades incorporadas en la síntesis de Fourier. Un número relativamente pequeño de puntos puede producir una imagen de baja resolución (6 Å) que rastrea la trayectoria de la cadena polipeptídica pero ofrece poca información estructural adicional. Por otra parte, el procesamiento de los datos ofrecidos por decenas de miles de puntos permite trazar mapas muy detallados de la densidad

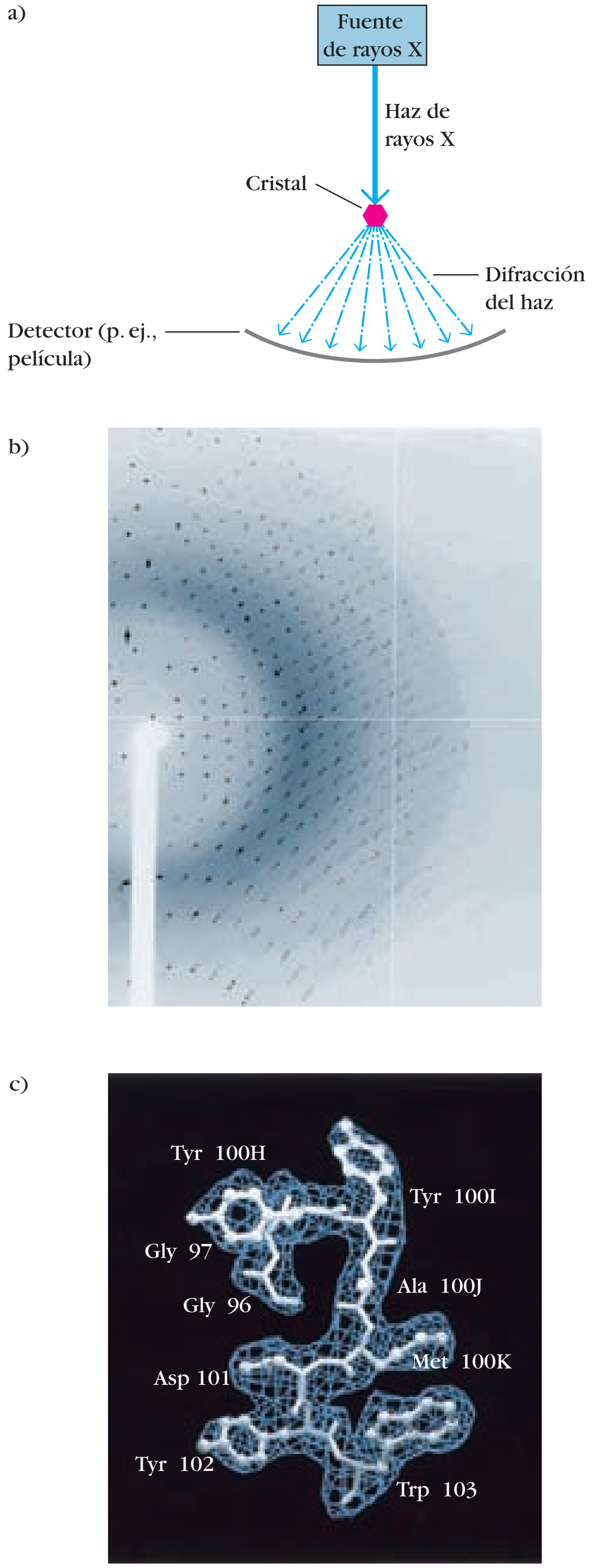


FIGURA 22-5 Cristalografía de rayos X. a) Esquema de un experimento cristalográfico de rayos X en el que un haz de estos rayos bombardea el cristal y se identifica la difracción de los rayos. b) Corte de un patrón de difracción de rayos X de un cristal de IgG2a murina. c) Corte del mapa de densidad de electrones de IgG2a murina. *[Parte a de L. Stryer, 1995,* Biochemistry, *4th ed.; partes b y c cortesía de A. McPherson.]*

electrónica. Si se sabe la secuencia de aminoácidos de la proteína, estos mapas pueden guiar la construcción de modelos tridimensionales de alta resolución. Es necesario tener datos sobre la secuencia de aminoácidos porque puede ser difícil, y en ocasiones imposible, distinguir sin ambigüedad entre algunas cadenas laterales de aminoácidos o incluso entre los mapas más detallados de la densidad de electrones.

Desde 1960, año en que se dedujeron las primeras estructuras detalladas de proteínas, se han resuelto las de otros muchos miles de éstas. Dichas estructuras varían entre las proteínas pequeñas y (relativamente) simples, como la lisozima, constituida por una sola cadena polipeptídica, hasta el virus de la poliomielitis, que es una nucleoproteína abrumadoramente compleja de 8 500 000 Da constituida por RNA encerrado por múltiples copias de cuatro subunidades polipeptídicas diferentes. De especial interés para los inmunólogos son las grandes cantidades de moléculas de importancia inmunológica de las cuales se conoce ya la estructura cristalina detallada. Entre ellas se encuentran muchas inmunoglobulinas, casi todas las proteínas mayores y menores que participan en los complejos de MHC y receptores de célula T, y muchas otras macromoléculas importantes desde el punto de vista inmunológico; y cada mes aparecen nuevas estructuras y variantes estructurales.

Tecnología de DNA recombinante

Las diversas técnicas que de manera conjunta se han denominado tecnología de DNA recombinante han tenido un efecto sobre cada uno de los campos de la investigación inmunológica. En la actualidad es posible clonar genes, secuenciar DNA y producir proteínas recombinantes, lo que pone en manos de los inmunólogos componentes definidos para el estudio de la estructura y la función del sistema inmunitario a nivel molecular. En esta sección se describen con brevedad algunas de las técnicas de DNA recombinante utilizadas a menudo en la investigación inmunológica; se han ofrecido ejemplos de su aplicación a todo lo largo de esta obra.

Las enzimas de restricción escinden el DNA en secuencias precisas

Diversas bacterias producen enzimas, llamadas *endonucleasas de restricción*, que degradan el DNA extraño (p. ej., DNA de bacteriófago) pero dejan indemne al DNA de la célula bacteriana, que contiene residuos metilados. El descubrimiento de estas enzimas bacterianas en el decenio de 1970 abrió el camino para un gran avance tecnológico en el campo de la biología molecular. Antes que se descubrieran las endonucleasas de restricción, el DNA bicatenario (dsDNA) podía cortarse sólo con DNasas. Estas enzimas no reconocen sitios definidos y, por este motivo, escinden al azar el DNA en una serie variable de pequeños fragmentos, imposibles de identificar por su tamaño o secuencia. En contraste, las endonucleasas de restricción reconocen y escinden el DNA en sitios específicos, llamados sitios de restricción, que son segmentos de doble cadena cortos con una secuencia específica que contiene cuatro a ocho nucleótidos (cuadro 22-5).

Una endonucleasa de restricción corta ambas cadenas de DNA en un punto específico dentro de su sitio de restricción. Algunas enzimas, como *Hpa*I, cortan el eje central y, de esta

CUADRO 22-5 Algunas enzimas de restricción y sus secuencias de reconocimiento

Microorganismo productor	Vida media	Secuencia* 5′ → 3′ 3′ → 5′
Bacillus amyloliquefaciens H	*Bam*HI	G|G A T C C C C T A G|G
Escherichia coli RY 13	*Eco*RI	G|A A T T C C T T A A|G
Haemophilus aegyptius	*Hae*III	G C|C C C C|G G
Haemophilus influenzae Rd	*Hind*III	A|A G C T T T T C G A|A
Haemophilus parainfluenzae	*Hpa*I	G T T|A A C C A A|T T G
Nocardia otitidis-caviarum	*Not*I	G C|G G C C G C C G C C G|G C G
Providencia stuartii 164	*Pst*I	G T G C A|G G|A C G T C
Staphylococcus aureus 3A	*Sau*3A	|G A T C C T A G|

*Las líneas indican localizaciones de los cortes de cadenas sencillas dentro del sitio de restricción. Las enzimas que efectúan los cortes fuera de centro producen fragmentos con extensiones cortas de cadena sencilla en sus extremos.

FUENTE: New England Biolabs, http://www.neb.com

manera, generan fragmentos de terminación roma. Otras enzimas, como *Eco*RI, cortan al DNA en puntos escalonados en el sitio de reconocimiento. En este caso, el extremo de cada fragmento escindido es un segmento corto de DNA monocatenario, denominado *extremo pegajoso.* Cuando se cortan dos moléculas diferentes de DNA con la misma enzima de restricción que efectúa cortes escalonados, los extremos pegajosos de los fragmentos son complementarios; en condiciones apropiadas, los fragmentos de las dos moléculas pueden unirse por pareamiento de bases para generar una molécula de DNA recombinante. Se han aislado varios cientos de diferentes endonucleasas de restricción y se dispone de muchas de ellas en el comercio, lo que permite a los investigadores adquirir enzimas que cortan al DNA en sitios de restricción definidos.

Las secuencias de DNA se clonan en vectores

El desarrollo de la tecnología de clonación del DNA en el decenio de 1970 ofreció un medio para amplificar un fragmento determinado de DNA en una magnitud que ha permitido la producción de cantidades ilimitadas de fragmentos de DNA idénticos (DNA clonado).

Los vectores de clonación son de utilidad para duplicar secuencias de DNA definidas

En la clonación de DNA, un fragmento determinado de este ácido nucleico se inserta en una molécula de DNA que se duplica de manera autónoma, denominada vector de clonación, de modo que el DNA insertado se duplica con el vector. Se han usado como vectores diferentes virus, entre ellos virus bacterianos, virus de insectos y retrovirus de mamíferos. Un virus bacteriano utilizado con frecuencia como vector es el bacteriófago λ. Si se inserta un gen en este bacteriófago y el fago λ recombinante resultante se emplea para infectar *E. coli*, esta bacteria expresa el gen insertado.

Los plásmidos constituyen otro tipo frecuente de vectores de clonación. El plásmido es una pequeña molécula circular de DNA extracromosómico capaz de duplicarse de manera independiente en una célula hospedadora; el hospedador que se utiliza más a menudo para la clonación de DNA es la bacteria *E. coli.* En general, el DNA que se clona se inserta en un plásmido que contiene un gen de resistencia a los antibióticos. Una vez que el plásmido recombinante se ha incubado con células bacterianas, las células que lo contienen pueden seleccionarse por su capacidad de proliferar en presencia de ese antibiótico.

Otro tipo de vector usado a menudo para la clonación es el *vector cósmido.* Este tipo de vector es un plásmido que se ha sometido a ingeniería genética para que contenga los sitios COS del DNA del fago λ, un gen de resistencia a fármacos y un origen de duplicación. Los sitios COS son secuencias de DNA que permiten a cualquier DNA de hasta 50 kb de longitud empacarse en la cabeza del fago λ.

La clonación del cDNA y el DNA genómico permite el aislamiento de secuencias definidas

El RNA mensajero (mRNA) aislado de células puede transcribirse en DNA complementario (cDNA) por medio de la enzima transcriptasa inversa (o inversotranscriptasa, por brevedad). Es posible clonar el cDNA insertándolo en un vector plásmido portador de un gen que confiere resistencia a un antibiótico, como ampicilina. El DNA recombinante del plásmido se transfiere entonces a células de *E. coli* tratadas de modo especial por cualquiera de varias técnicas; el proceso de transferencia se llama **transfección**. Si el DNA extraño se incorpora y se expresa en la célula hospedadora, se dice que esta célula está **transformada**. Cuando las células se cultivan en placas de agar que contienen ampicilina, sólo sobreviven y proliferan las células transformadas que contienen al gen de resistencia a ampicilina (fig. 22-6). Una colección de secuencias del DNA dentro de vectores plásmidos que representa todas las secuencias de mRNA derivadas de una célula o un tejido se denomina *biblioteca de cDNA.* Una biblioteca de cDNA difiere de una biblioteca genómica porque contiene sólo las secuencias derivadas del mRNA, que son las que representan los genes expresados.

La clonación genómica, que es la clonación de todo el genoma de un animal, requiere vectores especializados. Los vectores plásmidos de *E. coli* son imprácticos para la clonación de todos los fragmentos de DNA genómico que constituyen un genoma grande debido a la baja eficiencia de transformación de *E. coli* y al número pequeño de colonias transformadas que pueden detectarse en una caja de Petri típica. Más bien se emplean vectores de clonación derivados del bacteriófago λ para clonar los fragmentos de DNA genómico obtenidos por escisión del DNA cromosómico mediante enzimas de restricción (fig. 22-7). El DNA del bacteriófago λ tiene longitud de 48.5 kb y contiene una sección central de unas 15 kb que no

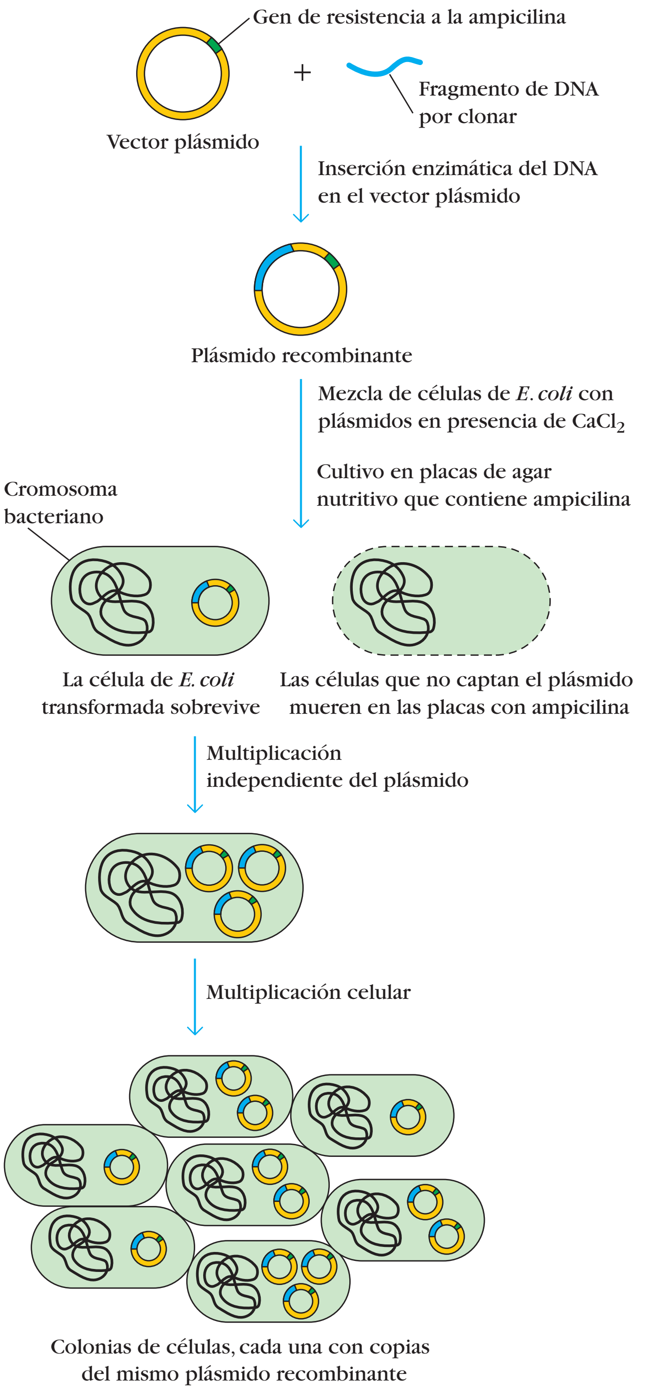

Gen de resistencia a la ampicilina
+
Fragmento de DNA por clonar
Vector plásmido
Inserción enzimática del DNA en el vector plásmido
Plásmido recombinante
Mezcla de células de *E. coli* con plásmidos en presencia de $CaCl_2$
Cultivo en placas de agar nutritivo que contiene ampicilina
Cromosoma bacteriano
La célula de *E. coli* transformada sobrevive
Las células que no captan el plásmido mueren en las placas con ampicilina
Multiplicación independiente del plásmido
Multiplicación celular
Colonias de células, cada una con copias del mismo plásmido recombinante

FIGURA 22-6 Clonación del cDNA usando un plásmido como vector. Se corta un plásmido que contenga un origen de duplicación y un gen de resistencia a la ampicilina con una endonucleasa de restricción que produce extremos terminales romos. Después de añadir una cola de poly-C a los extremos 3' del cDNA y una cola complementaria de poly-G a los extremos 3' del plásmido cortado, se mezclan los dos DNA, se renaturalizan ("templan") y se unen mediante ligasa de DNA, con lo cual se forma el plásmido recombinante. La captación de este último por células de *E. coli* se estimula mediante concentraciones elevadas de $CaCl_2$. La transformación ocurre con baja frecuencia, pero las células transformadas pueden seleccionarse en presencia de ampicilina. *[Adaptada de H. Lodish et al., 1995,* Molecular Cell Biology, *3rd ed. Scientific American Books.]*

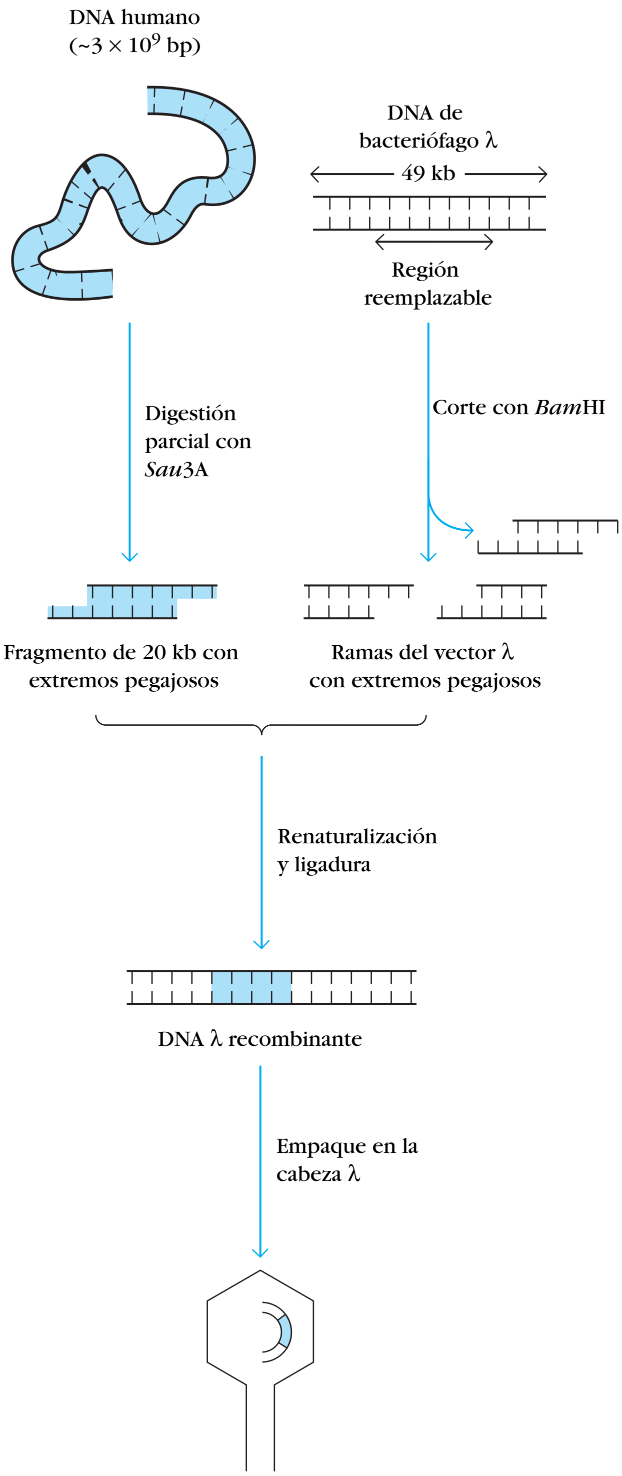

DNA humano (~3 × 10^9 bp)
DNA de bacteriófago λ
49 kb
Región reemplazable
Digestión parcial con *Sau*3A
Corte con *Bam*HI
Fragmento de 20 kb con extremos pegajosos
Ramas del vector λ con extremos pegajosos
Renaturalización y ligadura
DNA λ recombinante
Empaque en la cabeza λ

FIGURA 22-7 Clonación de DNA genómico usando un bacteriófago λ como vector. El DNA genómico se digiere en parte con *Sau*3A, lo que produce fragmentos pegajosos. La región central de 15 kb del DNA fágico λ se corta con *Bam*HI y se descarta. Estas dos enzimas de restricción producen extremos pegajosos complementarios, de tal modo que los fragmentos genómico y de DNA se pueden renaturalizar y ligar. Una vez que el DNA recombinante resultante se empaca en una cabeza de fago λ, puede propagarse en *E. coli*.

es necesaria para la duplicación λ en *E. coli* y por ello puede reemplazarse con DNA genómico extraño. Mientras el DNA recombinante no exceda en mucho la longitud del DNA del fago λ original, puede empacarse en la cabeza del fago λ y propagarse en *E. coli*. Esto significa que pueden clonarse algo más de 2.0×10^4 pares de bases en una partícula de fago λ. Una colección de clonas λ que contienen todas las secuencias del DNA de una especie dada se denomina *biblioteca genómica*. Se necesitan alrededor de un millón de partículas recombinantes distintas de fago λ para formar una biblioteca de DNA genómico representativa del genoma íntegro de un mamífero, que contiene alrededor de 3×10^9 pares de bases.

A menudo, el tramo de 20 a 25 kb de DNA que puede clonarse en el bacteriófago λ no es lo suficientemente largo para incluir las secuencias reguladoras que se encuentran fuera de los extremos 5′ y 3′ de las secuencias de codificación directa de un gen. Como ya se mencionó, en un vector cósmido pueden clonarse fragmentos de DNA genómico de mayor tamaño, de 30 a 50 kb de longitud. Un vector cósmido recombinante, aunque no es un bacteriófago del todo funcional, es capaz de infectar *E. coli* y duplicarse como plásmido, con lo que se crea una biblioteca de cósmido. En fecha reciente se utilizó un virus de *E. coli* de mayor tamaño, llamado bacteriófago P1, para empacar fragmentos de DNA de hasta 100 kb de largo. Pueden clonarse fragmentos de DNA aun mayores, de más de 2 000 kpb de longitud, en cromosomas artificiales de levadura (**YAC**, del inglés *yeast artificial chromosomes*), que son segmentos lineales de DNA que pueden duplicarse en células de levadura (cuadro 22-6). El BAC, o cromosoma artificial bacteriano, es otro vector de utilidad. Los BAC pueden aceptar segmentos de DNA hasta de 100 a 300 kb de longitud. Aunque los YAC aceptan fragmentos de DNA extraño de mayor longitud, los BAC son mucho más fáciles de propagar y son los vectores preferidos para muchos esfuerzos de clonación a gran escala.

CUADRO 22-6 Vectores y longitud máxima del DNA que pueden transportar

Tipo de vector	Longitud máxima del DNA clonado (kb)
Plásmido	15
Bacteriófago λ	25
Cósmido	45
Bacteriófago P1	100
Cromosoma bacteriano artificial (BAC)	100–300
Cromosoma de levadura artificial (YAC)	>2 000

Las clonas de DNA se seleccionan por hibridación

Una vez que se ha elaborado una biblioteca de cDNA o DNA genómico, puede inspeccionarse para identificar un segmento de DNA en particular mediante una técnica conocida como *hibridación in situ*. Las colonias bacterianas o de levadura clonadas, o las placas de fagos que contienen el DNA recombinante, se transfieren a filtros de nitrocelulosa o nylon por siembra en placa de réplica (fig. 22-8). El filtro se trata después con NaOH, que lisa las bacterias y desnaturaliza el DNA, con lo que es posible fijar al filtro DNA monocatenario (ssDNA). El filtro con el DNA fijado se incuba entonces con una sonda radiactiva específica para el gen de interés. La sonda experimenta hibridación con el DNA de las colonias o las placas sobre el filtro que contiene el gen buscado, y a continuación se puede identificar mediante autorradiografía. La posición de las colonias o placas positivas sobre el filtro indica el sitio en que se pueden encontrar las clonas correspondientes sobre la placa de agar original.

Pueden emplearse diversas sondas radiactivas para inspeccionar una biblioteca. En algunos casos, mRNA o cDNA radiomarcados funcionan como sonda. Si se ha purificado la proteína codificada por el gen de interés y se ha secuenciado en parte, es posible proceder en sentido retrógrado a partir de la secuencia de aminoácidos para identificar la probable secuencia de

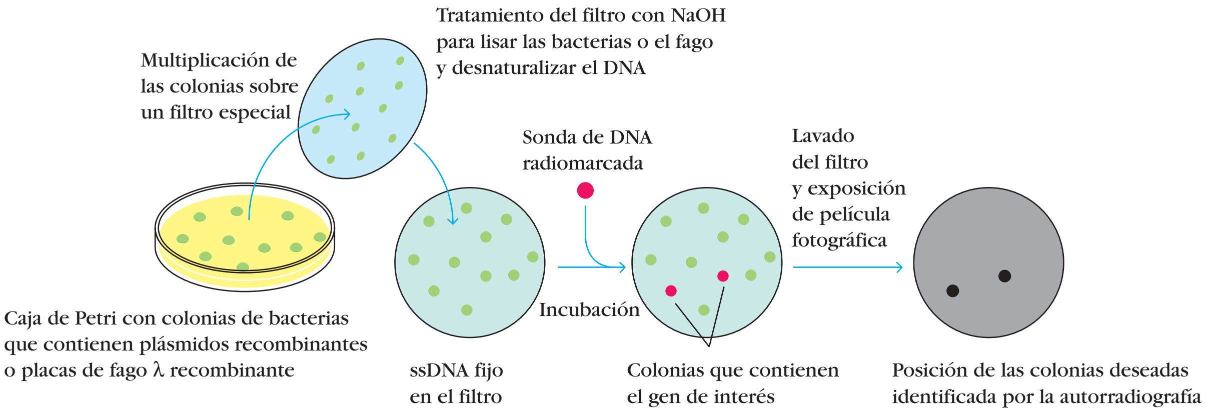

Tratamiento del filtro con NaOH para lisar las bacterias o el fago y desnaturalizar el DNA
Multiplicación de las colonias sobre un filtro especial
Sonda de DNA radiomarcada
Lavado del filtro y exposición de película fotográfica
Incubación
Caja de Petri con colonias de bacterias que contienen plásmidos recombinantes o placas de fago λ recombinante
ssDNA fijo en el filtro
Colonias que contienen el gen de interés
Posición de las colonias deseadas identificada por la autorradiografía

FIGURA 22-8 Selección de clonas específicas para formar una biblioteca de cDNA o DNA genómico mediante hibridación in situ. Se colocan filtros de nitrocelulosa o nylon contra la placa para capturar las colonias bacterianas o las placas fágicas que contienen los genes clonados. Una vez que se ha colocado el filtro en solución de NaOH y se calienta, el ssDNA desnaturalizado se fija al filtro. Se incuba con este último una sonda radiactiva específica para el gen de interés. La posición de las colonias o las placas que contienen el gen deseado se revela mediante autorradiografía.

nucleótidos del gen correspondiente. Todo lo que se necesita para sintetizar sondas de oligonucleótidos radiomarcadas con las cuales investigar una biblioteca de cDNA o una genómica de un gen en particular es una secuencia conocida de cinco o seis residuos. Para hacer frente a la degenerancia del código genético, suelen elegirse segmentos peptídicos que contienen aminoácidos codificados por un número limitado de codones. Luego se sintetizan los oligonucleótidos representativos de todos los posibles codones para el péptido y se usan como sondas para inspeccionar la biblioteca de DNA.

La prueba de Southern blotting identifica el DNA de una secuencia determinada

Los fragmentos de DNA generados por escisión mediante endonucleasa de restricción pueden separarse con base en su longitud por electroforesis en gel de agarosa. Cuanto más corto sea un fragmento, tanto más rápido se desplazará en el gel. Puede aplicarse una técnica elegante desarrollada por E. M. Southern para identificar cualquier banda que contenga fragmentos con una secuencia génica determinada (fig. 22-9). En esta técnica, denominada **Southern blotting**, se corta el DNA con enzimas de restricción y los fragmentos se separan por tamaño mediante electroforesis en un gel de agarosa. Después se lava el gel en solución de NaOH para desnaturalizar el dsDNA, y los fragmentos resultantes de ssDNA se transfieren a un filtro de nitrocelulosa o nylon por capilaridad. Después de la transferencia, el filtro se incuba con una sonda radiomarcada apropiada específica para el gen de interés. La sonda se hibrida con el fragmento de ssDNA que contiene el gen de interés, y se determina la posición de la banda portadora de estos fragmentos hibridados mediante autorradiografía. El análisis de Southern-blot fue decisivo para descifrar el mecanismo por medio del cual se genera la diversidad de anticuerpos y receptores de célula T (figs. 5-2 y 9-2).

La prueba de Northern blotting identifica mRNA

La prueba de **Northern blotting** (denominada así por su semejanza con la de Southern blotting) se utiliza para identificar la presencia de moléculas específicas de mRNA. En este procedimiento se desnaturaliza primero el mRNA para garantizar que esté en una forma lineal, no arrollada. Luego las moléculas de mRNA se separan por tamaño mediante electroforesis y se transfieren a un filtro de nitrocelulosa, al que se adhieren. En seguida se incuba el filtro con una sonda de DNA marcada y se somete a autorradiografía. El análisis Northern-blot se usa con frecuencia para determinar cuánto mRNA específico se expresa en las células en diferentes condiciones. Incrementar las concentraciones de mRNA fija una cantidad proporcionalmente más grande de la sonda de DNA marcada.

La reacción en cadena de la polimerasa amplifica cantidades pequeñas de DNA

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es una técnica poderosa para amplificar secuencias específicas de DNA, aun si se encuentran en cantidades extremadamente bajas en una mezcla compleja (fig. 22-10). El procedimiento requiere que se conozcan las secuencias de DNA que flanquean la secuencia deseada de DNA, de tal modo que puedan sintetizarse oligonucleótidos cebadores cortos. La mezcla de DNA se desnaturaliza en cadenas sencillas mediante un tratamiento breve con calor. A continuación, el DNA se enfría en presencia de exceso de los oligonucleótidos cebadores, que se hibridan con el ssDNA complementario. Se añade después una polimerasa de DNA resistente a la temperatura, junto con los cuatro trifosfatos de desoxirribonucleótido, y se copia cada banda. El doblete de DNA recién sintetizado se separa por calentamiento y el ciclo se repite. En cada ciclo se observa la duplicación de la secuencia de DNA

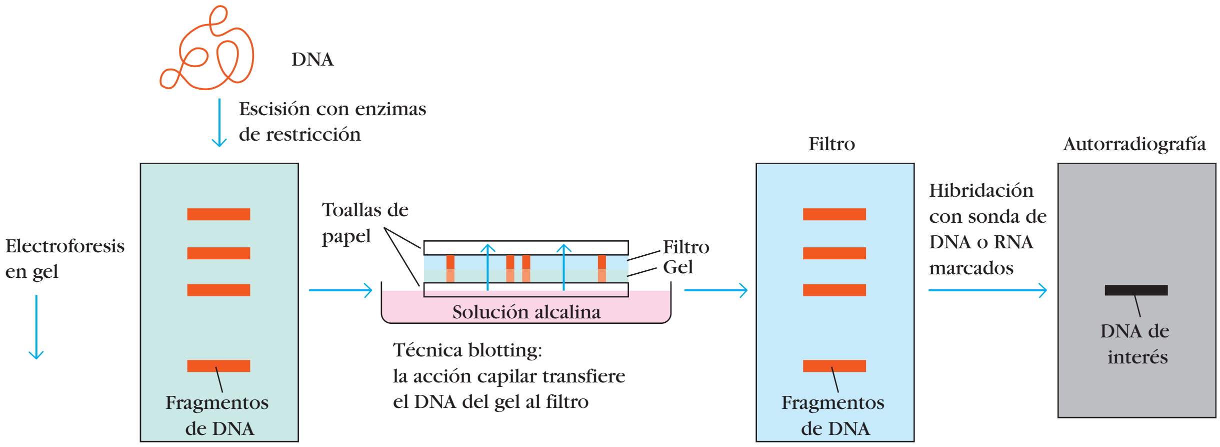

DNA
Escisión con enzimas de restricción
Electroforesis en gel
Fragmentos de DNA
Toallas de papel
Filtro
Gel
Solución alcalina
Técnica blotting: la acción capilar transfiere el DNA del gel al filtro
Filtro
Fragmentos de DNA
Hibridación con sonda de DNA o RNA marcados
Autorradiografía
DNA de interés

FIGURA 22-9 Técnica de Southern-blot para identificar secuencias específicas en fragmentos de DNA. Los fragmentos de DNA producidos mediante escisión por enzimas de restricción se separan por tamaño mediante electroforesis en gel de agarosa. El gel de agarosa se cubre con un filtro de nitrocelulosa o nylon y un paquete grueso de toallas de papel. A continuación, el gel se coloca en solución salina alcalina, que desnaturaliza el DNA. A medida que las toallas de papel absorben la humedad, se extrae la solución a través del gel para que se introduzca en el filtro, de modo que se transfiera a éste cada cadena de ssDNA. Este proceso se denomina *blotting* (manchado). Después del calentamiento, el filtro se incuba con una sonda radiomarcada específica para la secuencia de interés; los fragmentos de DNA que se hibridan con la sonda se identifican mediante autorradiografía. *[Adaptada de J. Darnell et al., 1990,* Molecular Cell Biology, *2nd ed., Scientific American Books.]*

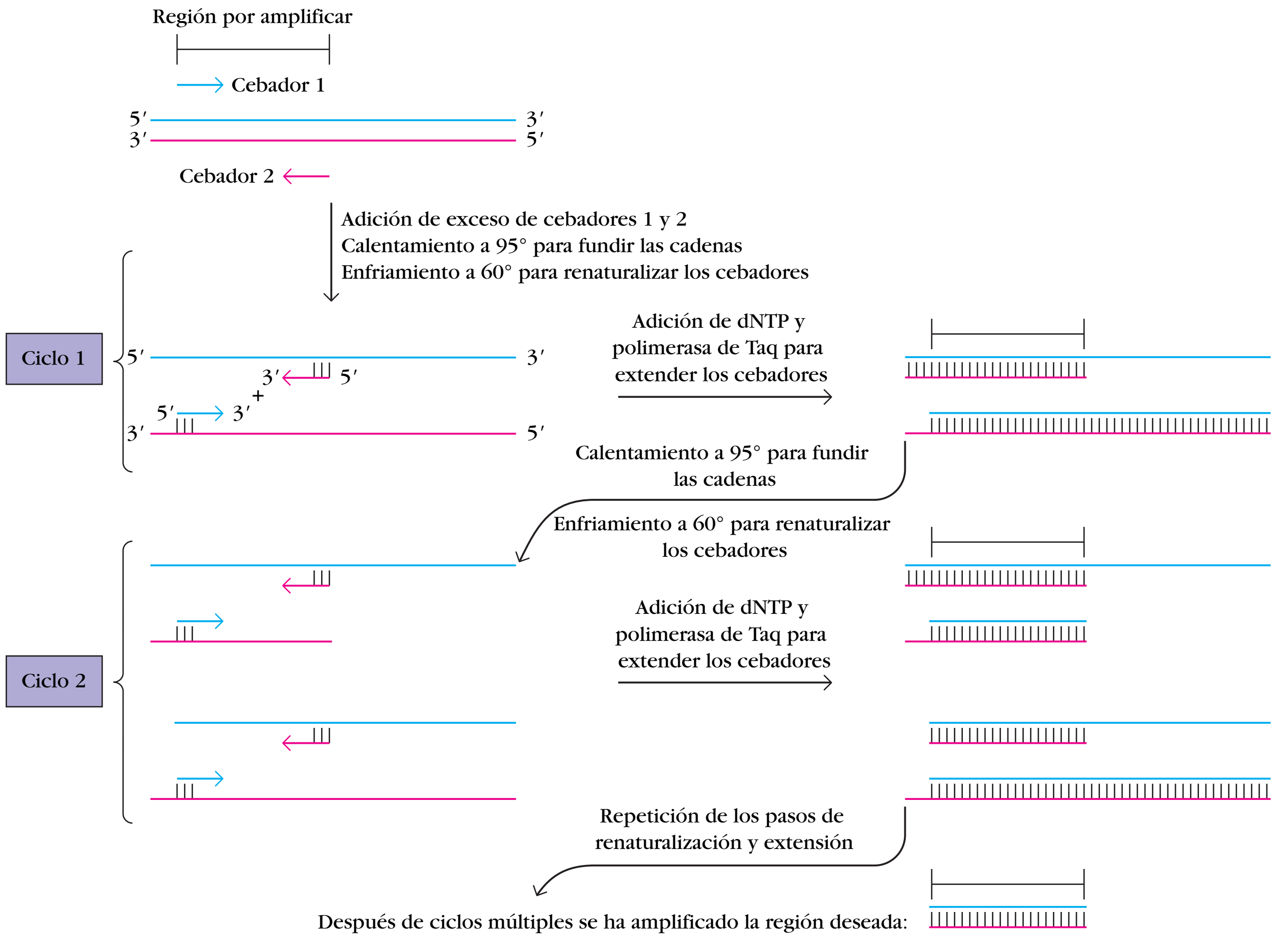

Región por amplificar
Cebador 1
5′
3′
3′
5′
Cebador 2
Adición de exceso de cebadores 1 y 2
Calentamiento a 95° para fundir las cadenas
Enfriamiento a 60° para renaturalizar los cebadores
Ciclo 1
5′
3′
3′
5′
5′
3′
+
5′
3′
Adición de dNTP y polimerasa de Taq para extender los cebadores
Calentamiento a 95° para fundir las cadenas
Enfriamiento a 60° para renaturalizar los cebadores
Ciclo 2
Adición de dNTP y polimerasa de Taq para extender los cebadores
Repetición de los pasos de renaturalización y extensión
Después de ciclos múltiples se ha amplificado la región deseada:

FIGURA 22-10 **Reacción en cadena de la polimerasa (PCR).** Se desnaturaliza el DNA en bandas sencillas mediante un tratamiento breve con calor y a continuación se enfría en presencia de exceso de oligonucleótidos cebadores complementarios de las secuencias de DNA que flanquean el segmento de DNA deseado. Se emplea una polimerasa de DNA termorresistente para copiar el DNA a partir de los extremos 3′ de los cebadores. Como todos los componentes de la reacción son termoestables, se puede repetir el ciclo de calentamiento y enfriamiento muchas veces, lo que tiene como resultado fusión y síntesis de DNA alterno, y amplificación rápida de una secuencia determinada. *[Adaptada de H. Lodish et al., 1995,* Molecular cell biology, *3rd ed., Scientific American Books.]*

deseada; en tan sólo 25 ciclos se puede amplificar en alrededor de un millón de veces esta secuencia de DNA.

El DNA amplificado por la PCR puede caracterizarse aún más mediante Southern blotting, mapeo por enzimas de restricción y secuenciación directa de DNA. La técnica de PCR ha permitido a los inmunólogos amplificar los genes codificadores de proteínas que son importantes en la inmunorreacción, como moléculas MHC, receptores de célula T e inmunoglobulinas.

Análisis de secuencias reguladoras de DNA

Las secuencias promotoras e intensificadoras regulan la actividad transcripcional de los genes. Estas secuencias son *cis-actuantes*, lo cual significa que sólo regulan genes que están en la misma molécula de DNA. La secuencia promotora se halla corriente arriba del gen que regula e incluye una caja TATA en la que el mecanismo general de transcripción, incluida la polimerasa II de RNA, se fija e inicia la transcripción. La secuencia intensificadora confiere una tasa elevada de transcripción al promotor. A diferencia de este último, que siempre se encuentra corriente arriba en relación con el gen que controla, el elemento intensificador puede localizarse en cualquier sitio respecto al gen (5′ del promotor, 3′ del gen, o incluso en un intrón del gen).

La actividad de las secuencias intensificadora y promotora se encuentra bajo el control de factores de transcripción, que son proteínas de unión a DNA. Estas proteínas se fijan a secuencias de nucleótidos específicas dentro de los promotores y los intensificadores y fomentan o suprimen su actividad. Se han identificado secuencias intensificadoras y promotoras y sus proteínas de unión a DNA respectivas por diversas técnicas, como análisis de huellas de DNA, análisis de retardo en gel y ensayo de acetiltransferasa de cloranfenicol (CAT).

El análisis de huellas de DNA identifica los sitios en que se fijan proteínas a éste

Los sitios en que las proteínas de unión a DNA se fijan a intensificadores y promotores pueden identificarse mediante una téc-

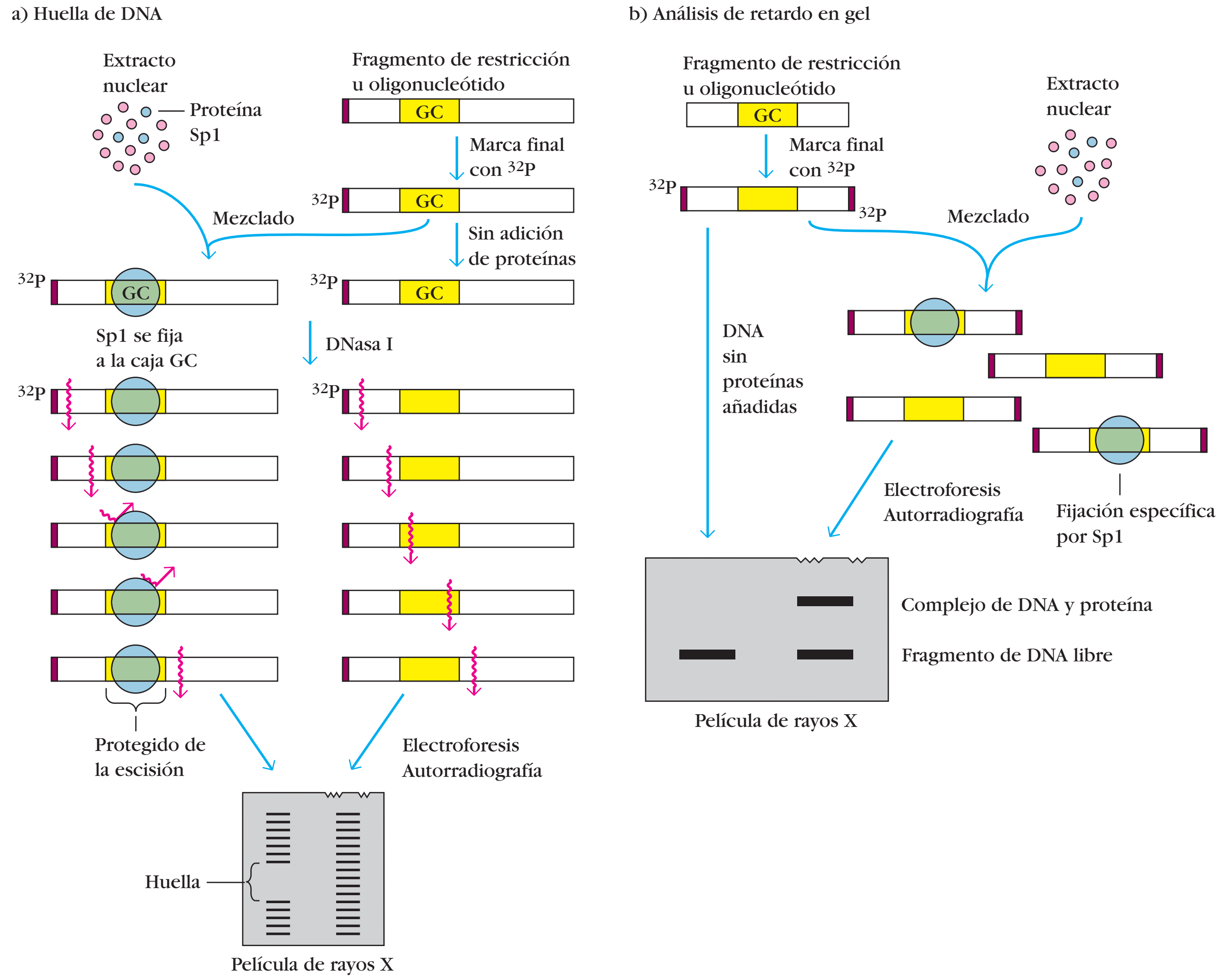

a) Huella de DNA
Extracto nuclear
Proteína Sp1
Fragmento de restricción u oligonucleótido
GC
Marca final con 32P
32P
Mezclado
Sin adición de proteínas
Sp1 se fija a la caja GC
DNasa I
Protegido de la escisión
Electroforesis Autorradiografía
Huella
Película de rayos X
b) Análisis de retardo en gel
Fragmento de restricción u oligonucleótido
Extracto nuclear
Marca final con 32P
Mezclado
DNA sin proteínas añadidas
Electroforesis Autorradiografía
Fijación específica por Sp1
Complejo de DNA y proteína
Fragmento de DNA libre
Película de rayos X

FIGURA 22-11 Identificación de las secuencias de DNA que se unen a proteínas mediante análisis de huellas de DNA y análisis de retardo en gel. a) En la técnica de huellas de DNA, los fragmentos marcados de DNA que contienen una posible secuencia promotora o intensificadora se incuban en presencia y ausencia de una proteína de unión a DNA (p. ej., proteína Sp1, que se fija a una "caja GC", una región del DNA rica en GC). Una vez tratadas las muestras con DNasa y separadas las cadenas, se aplica electroforesis a los fragmentos resultantes; a continuación el gel se somete a autorradiografía. La región en blanco ("huella") en el patrón del gel indica que la proteína se ha fijado al DNA. b) En el análisis de retardo en gel, se incuba un fragmento marcado de DNA con un extracto celular que contiene factores de transcripción. La movilidad electroforética del complejo de DNA y proteína es menor que la de los fragmentos de DNA libres. *[Adaptada de J. D. Watson et al., 1992,* Recombinant DNA, *2nd ed., W. H. Freeman and Company.]*

nica denominada análisis de huellas de DNA (fig. 22-11a). En esta técnica, un fragmento de DNA clonado que contenga una posible secuencia intensificadora o promotora se radiomarca primero en el extremo 5′ con ^{32}P. Después, el DNA marcado se divide en dos fracciones: una se incuba con un extracto nuclear que contiene una proteína de unión a DNA; la otra fracción no se incuba con el extracto. Luego se digieren ambas muestras con una nucleasa o una sustancia química que efectúen cortes al azar en los enlaces fosfodiestéricos del DNA y se separan las cadenas. Los fragmentos de DNA resultantes se someten a electroforesis en gel para separar los fragmentos de diferentes tamaños. En ausencia de proteínas de unión a DNA, se obtiene una escalera completa de bandas en el gel electroforético. Cuando hay una proteína que se ha fijado en un sitio del fragmento de DNA, cubre algunos de los nucleótidos y protege ese tramo del DNA contra la digestión. El patrón electroforético de este DNA protegido contiene regiones en blanco ("huellas"). Cada huella representa el sitio dentro de un intensificador o un promotor que se enlaza a una proteína de unión a DNA particular.

El análisis de retardo en gel identifica complejos de DNA y proteína

Cuando una proteína se fija a un fragmento de DNA, formando un complejo de DNA y proteína, se reduce la movilidad electroforética del fragmento de DNA en un gel, lo que produce un cambio en la posición de la banda que contiene ese fragmento. Este fenómeno es la base del análisis de retardo en gel. En esta técnica, un DNA clonado radiomarcado que contiene una secuencia intensificadora o promotora se incuba con un extracto nuclear que contiene una proteína de unión a DNA (fig. 22-11b). El complejo de DNA y proteína se somete entonces a electroforesis, y se compara su movilidad electroforética con la del DNA clonado solo. Un cambio en la movilidad indica que hay una proteína unida al DNA, que retrasa su migración en el gel electroforético.

Los ensayos de luciferasa miden la actividad transcripcional

Una manera de valorar la actividad promotora es someter a ingeniería genética y clonar una secuencia de DNA que contenga un *gen indicador* unido al promotor que se valora; cuando esta secuencia o constructo se introduce en células eucarióticas, se inicia la transcripción a partir del promotor si éste se encuentra activo, y se transcribe el gen indicador y se sintetiza su producto proteínico. Medir la cantidad producida de esta proteína es, en consecuencia, una manera de determinar la actividad del promotor. Introduciendo mutaciones en secuencias promotoras, y analizando luego en busca de actividad de promotor con el gen indicador correspondiente, se han identificado motivos con secuencias conservadas dentro de los promotores.

La mayoría de los genes indicadores se selecciona porque codifican proteínas que se pueden medir con facilidad, como la enzima luciferasa de luciérnaga, que cataliza una reacción que produce luz; ésta es la reacción que hace a las luciérnagas brillar en la oscuridad. Cuanto más activo sea el promotor, tanto más luciferasa se producirá dentro de la célula transfectada. La actividad de luciferasa se cuantifica agregando su sustrato, luciferina, y midiendo la luz emitida con un luminómetro. Otro gen indicador de uso común codifica una proteína emisora de fluorescencia verde (GFP), y se le considera al final del capítulo.

Transferencia de genes a células de mamífero

Se han aislado y clonado diversos genes participantes en la inmunidad mediante técnicas de DNA recombinante. Se han estudiado la expresión y la regulación de estos genes introduciéndolos en células de mamífero cultivadas y, en fecha más reciente, en la **línea germinal** de ciertos animales.

Los genes clonados transferidos a células cultivadas permiten el análisis in vitro de la función génica

Se han desarrollado diversas técnicas para la transfección de genes en células. Una técnica común consiste en utilizar un retrovirus en el que un gen estructural vírico se ha reemplazado por el gen clonado por transfectar. El retrovirus modificado se utiliza entonces como vector para introducir el gen clonado en células cultivadas. A causa de las propiedades de los retrovirus, el DNA recombinante se integra en el genoma celular con frecuencia elevada. En un método alternativo se elabora un complejo del gen clonado de interés y fosfato de calcio. Este complejo de fosfato de calcio y DNA se precipita con lentitud sobre las células y un porcentaje de ellas capta el DNA. En otro método de transfección, llamado electroporación, una corriente eléctrica crea poros en las membranas celulares a través de los cuales la célula capta el DNA clonado. En estos dos últimos métodos el DNA transfectado se integra, al parecer en sitios determinados por el azar, en el DNA de un pequeño porcentaje de las células tratadas.

En general, el DNA clonado por transfectar se manipula por ingeniería genética para que contenga un gen marcador seleccionable, por ejemplo uno que confiera resistencia a la neomicina. Después de la transfección las células se cultivan en presencia de este antibiótico. Como en estas condiciones sólo las células transfectadas son capaces de proliferar, el pequeño número de ellas en la población celular total puede identificarse y seleccionarse.

La transfección de genes clonados en células ha sido un procedimiento de gran eficacia en la investigación inmunológica. Al transfectar genes participantes en la inmunidad dentro de células que carecen de ellos, el producto de un gen específico puede estudiarse con independencia de las proteínas interactuantes codificadas por otros genes. Por ejemplo, la transfección de genes de MHC, bajo el control de promotores apropiados, en una línea celular de fibroblastos de ratón (células L929, o simplemente L) ha permitido a los inmunólogos estudiar la función de las moléculas MHC en la presentación de antígenos a las células T (fig. 22-12). La transfección del gen que codifica el receptor de

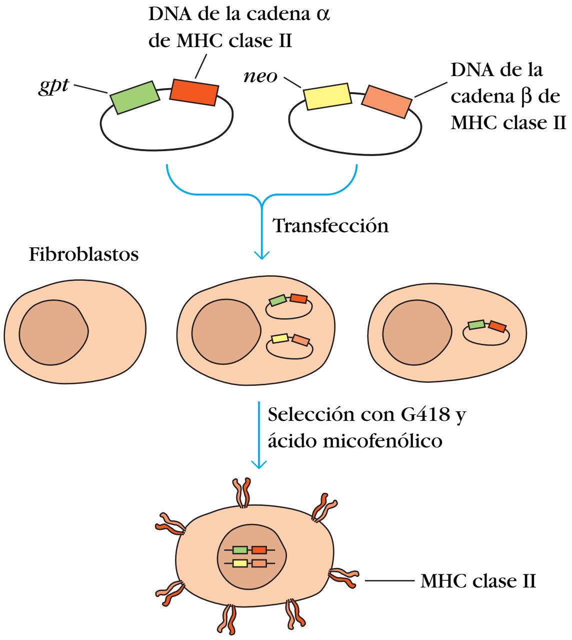

DNA de la cadena α de MHC clase II
gpt
neo
DNA de la cadena β de MHC clase II
Transfección
Fibroblastos
Selección con G418 y ácido micofenólico
MHC clase II

FIGURA 22-12 Transfección de los genes que codifican las cadenas α y β de MHC clase II en fibroblastos L de ratón, que normalmente no producen estas proteínas. Se sometieron a ingeniería genética dos constructos que contenían uno de los genes de MHC y un gen seleccionable: el gen de la cadena α con el gen de la fosforribosiltransferasa de guanina (*gpt*), que confiere resistencia al fármaco G418, y el gen de la cadena β con un gen de neomicina (*neo*), que confiere resistencia al ácido micofenólico. Después de la transfección, las células se colocan en medio que contiene G418 y ácido micofenólico. Sólo sobreviven a esta selección los fibroblastos que contengan los genes *neo* y *gpt* (y en consecuencia los genes que codifican a las cadenas α y β de MHC clase II). Estos fibroblastos expresan las dos cadenas de MHC clase II en sus membranas.

célula T ha proporcionado información sobre la especificidad de antígeno y MHC de dicho receptor.

Los **retrovirus**, que pueden infectar virtualmente a cualquier tipo de célula de mamífero, son vectores de uso común para introducir DNA en células de mamífero, en particular células linfoides. Los retrovirus son virus de RNA que contienen inversotranscriptasa, enzima que cataliza la conversión del genoma vírico de RNA a DNA. El DNA vírico se integra entonces en el DNA cromosómico del hospedador, donde se le retiene como provirus, y se duplica junto con el DNA cromosómico del hospedador en cada división celular. Cuando se usa un retrovirus como vector en investigación, se le retira la mayor parte de los genes retrovíricos, de modo que el vector no pueda producir viriones; los genes retrovíricos que se conservan incluyen una región promotora poderosa, localizada en el extremo 5′ del genoma vírico, en una secuencia denominada *repetición terminal larga (LTR)*. Si se inserta un gen en este vector retrovírico y este último se utiliza luego para infectar células de mamífero, la expresión del gen queda bajo el control de la región promotora retrovírica. Dado que los linfocitos presentan especial resistencia a muchos métodos de transfección, el empleo de vectores retrovíricos para introducir genes en células linfoides ha sido de enorme utilidad para los inmunólogos.

Los genes clonados transferidos a embriones de ratón permiten el análisis in vivo de la función génica

El desarrollo de técnicas para introducir genes clonados extraños (denominados **transgenes**) en embriones de ratón ha permitido a los inmunólogos estudiar los efectos de genes del sistema inmunitario in vivo. Si el gen introducido se integra de manera estable en las células de la línea germinal, se transmite a los descendientes.

El primer paso para producir ratones transgénicos es inyectar DNA clonado extraño en un óvulo murino fecundado. En este proceso difícil, desde el punto de vista técnico, el óvulo se sostiene mediante aspiración en el extremo de una pipeta y el transgén se microinyecta en uno de los pronúcleos con una aguja fina. El transgén se integra en el DNA cromosómico del pronúcleo y se transfiere a las células hijas de los óvulos que sobreviven al proceso. Estos óvulos se implantan entonces en el oviducto de hembras de ratón “seudopreñadas”, y las crías transgénicas nacen después de 19 o 20 días de gestación (fig. 22-13). En general, la eficiencia de este procedimiento es lenta, ya que se producen sólo uno o dos ratones transgénicos por cada 100 óvulos fecundados que se colectan.

Con ratones transgénicos los inmunólogos han podido estudiar la expresión de un gen determinado en un animal vivo. Aunque todas las células de un animal transgénico contienen el transgén, las diferencias en la expresión de éste en los distintos tejidos ha arrojado luz sobre los mecanismos de la expresión génica específica de tejidos. Los investigadores pueden controlar la expresión de un transgén en particular al crearlo con un promotor particular. Por ejemplo, el promotor metalotioneína es activado por zinc. Los ratones transgénicos portadores de un transgén unido a un promotor metalotioneína expresan el transgén sólo si se añade zinc al agua que beben. Otros promotores

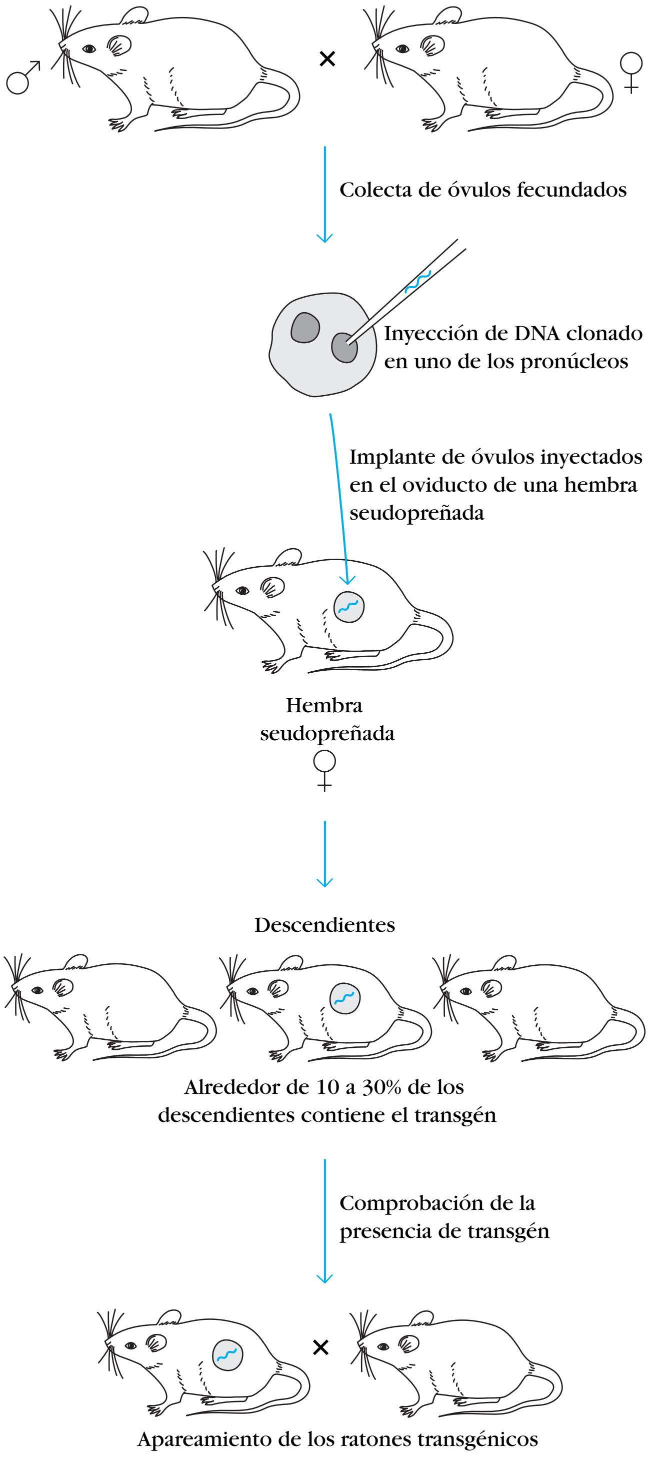

♂
×
♀
Colecta de óvulos fecundados
Inyección de DNA clonado en uno de los pronúcleos
Implante de óvulos inyectados en el oviducto de una hembra seudopreñada
Hembra seudopreñada
♀
Descendientes
Alrededor de 10 a 30% de los descendientes contiene el transgén
Comprobación de la presencia de transgén
×
Apareamiento de los ratones transgénicos

FIGURA 22-13 Procedimiento general para producir ratones transgénicos. Se colectan óvulos fecundados de una hembra de ratón preñada. Se microinyecta el DNA clonado (que se denomina transgén) en uno de los pronúcleos de un óvulo fecundado. En seguida se implantan los óvulos fecundados en el oviducto de ratones hembras destinados a ser madres adoptivas seudopreñadas (obtenidas del apareamiento de hembras normales con un macho estéril). El transgén se incorpora en el DNA cromosómico de 10 a 30% de los descendientes y se expresa en todas las células somáticas de éstos. Si un promotor específico de tejido se enlaza con un transgén, el resultado es la expresión específica de tejido de ese transgén.

son funcionales sólo en ciertos tejidos; el promotor insulina, por ejemplo, favorece la transcripción sólo en células pancreáticas. Así, los ratones transgénicos que portan un transgén unido al promotor insulina lo expresan en el páncreas pero no en otros tejidos.

Como un transgén se integra al DNA cromosómico del embrión murino unicelular, acaba por integrarse en células somáticas y de la línea germinal. Los ratones transgénicos resultantes pueden por tanto transmitir el transgén a sus descendientes como rasgo mendeliano. De esta manera ha sido posible producir líneas de ratones transgénicos en los que cada uno de los miembros contiene el mismo transgén. En la actualidad se dispone de diversas líneas transgénicas que se emplean con amplitud en las investigaciones inmunológicas. Entre ellas se encuentran líneas portadoras de transgenes que codifican inmunoglobulinas, receptores de célula T, moléculas MHC clases I y II, diversos antígenos extraños y algunas citocinas. Se han producido también varias líneas portadoras de oncogenes en forma de transgenes.

En los ratones con desactivación génica, el gen seleccionado se daña

Una limitación de los ratones transgénicos consiste en que el transgén se integra al azar en su genoma. Esto significa que algunos transgenes se insertan en regiones del DNA que no son activas desde el punto de vista transcripcional, por lo que el gen no se expresa. Para superar esta limitación, los investigadores han desarrollado una técnica en la que el gen deseado se dirige hacia sitios específicos dentro de la línea germinal de un ratón. El principal uso de esta técnica ha sido la sustitución de un gen normal por un alelo mutante o una forma alterada del gen, lo que anula su función. Los ratones transgénicos que portan dicho gen alterado, conocidos como *ratones con desactivación génica*, *ratones knockout* o *ratones KO*, han sido de enorme utilidad para los inmunólogos que tratan de comprender la manera en que la eliminación de un producto génico en particular afecta al sistema inmunitario. En el cuadro 22-7 se comparan ratones transgénicos y ratones con desactivación génica.

CUADRO 22-7 **Comparación de los ratones transgénicos y con desactivación génica**

Característica	Ratones transgénicos	Ratones con desactivación
Células que reciben DNA	Cigoto	Células madre embrionarias (ES)
Medios de descarga	Microinyección en el cigoto e implantación en la madre adoptiva	Transferencia de células ES al blastocisto e implantación en la madre adoptiva
Resultados	Ganancia de un gen	Pérdida de un gen

La producción de ratones con desactivación de genes específicos consiste en las siguientes etapas:

- Aislamiento y cultivo de **células madre embrionarias (ES)** a partir de la masa celular interna de un blastocisto de ratón.
- Introducción de un gen mutante o alterado en las células ES cultivadas y selección de células recombinantes homólogas en las que el gen de interés se ha anulado (es decir, se ha reemplazado por una forma no funcional del gen).
- Inyección de células ES recombinantes homólogas en un blastocisto de ratón receptor e implantación quirúrgica de este último en una hembra de ratón seudopreñada.
- Apareamiento de descendientes quiméricos heterocigotos para el gen alterado a fin de producir ratones knockout homocigotos.

Las células ES que se emplean en este procedimiento se obtienen al cultivar la masa de células internas de un blastocisto de ratón sobre una capa nutricia de fibroblastos o en presencia de factor inhibidor de leucemia. En estas condiciones, las células madre proliferan pero se conservan pluripotenciales y capaces de diferenciarse más tarde en diversas direcciones, con generación de linajes celulares bien definidos (p. ej., células germinales, miocárdicas, vasculares, mioblastos, neuronas). Una de las ventajas de las células ES es la facilidad con que pueden manipularse desde el punto de vista genético. El DNA clonado que contiene un gen deseado puede introducirse en células ES en cultivo mediante diversas técnicas de transfección. El DNA introducido se inserta por recombinación en el DNA cromosómico de un pequeño número de células ES.

Los constructos de inserción que se introducen en las células ES contienen tres genes: el gen seleccionado de interés y dos genes de selección, como neo^{R}, que confiere resistencia a la neomicina, y el gen de la timidincinasa del virus del herpes simple (tk^{HSV}), que confiere sensibilidad al ganciclovir, análogo de nucleótido citotóxico (fig. 22-14a). El constructo se somete a menudo a ingeniería genética con la secuencia del gen seleccionado alterada por el gen neo^{R} y con el gen tk^{HSV} en un extremo, más allá de la secuencia del gen seleccionado. La mayoría de los constructos se inserta al azar por recombinación no homóloga, más que por inserción dirigida por gen a través de recombinación homóloga. Como se ilustra en la figura 22-14b, se emplea un esquema de selección de dos pasos para obtener aquellas células ES que han experimentado recombinación homóloga, en la cual el gen alterado reemplaza al gen seleccionado.

Las células ES obtenidas por este procedimiento son heterocigotas para la mutación knockout en el gen seleccionado. Estas células se expanden de manera clonal en cultivo celular y luego se inyectan a un blastocisto de ratón, que se implanta entonces en una hembra seudopreñada. Los descendientes transgénicos que se desarrollan son quiméricos, compuestos por células derivadas de las células ES genéticamente alteradas y las células derivadas de células normales del blastocisto hospedador. Cuando se obtienen células de línea germinal de las células ES genéticamente alteradas, esta alteración genética se puede transmitir a los descendientes. Si las células ES recombinantes son homocigotas para el color de pelaje negro (o para otro marca-

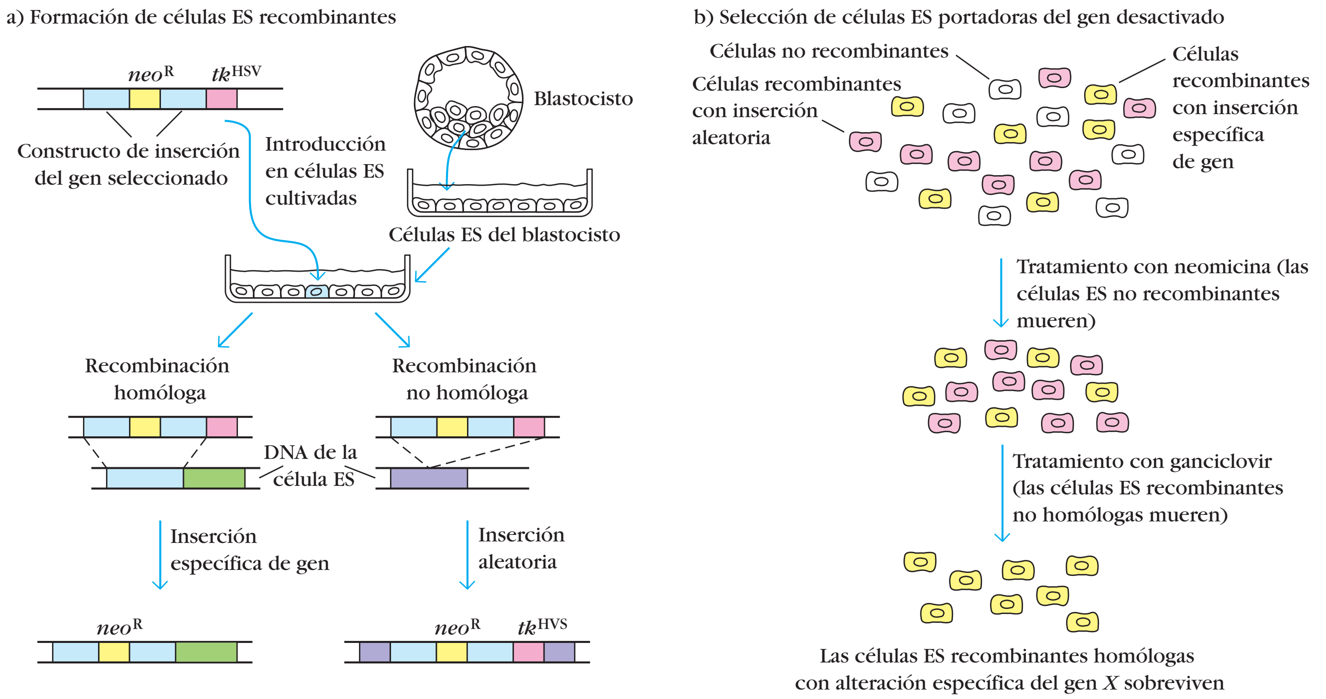

a) Formación de células ES recombinantes
neo^{R}
tk^{HSV}
Constructo de inserción del gen seleccionado
Blastocisto
Introducción en células ES cultivadas
Células ES del blastocisto
Recombinación homóloga
Recombinación no homóloga
DNA de la célula ES
Inserción específica de gen
Inserción aleatoria
neo^{R}
neo^{R}
tk^{HVS}
b) Selección de células ES portadoras del gen desactivado
Células no recombinantes
Células recombinantes con inserción aleatoria
Células recombinantes con inserción específica de gen
Tratamiento con neomicina (las células ES no recombinantes mueren)
Tratamiento con ganciclovir (las células ES recombinantes no homólogas mueren)
Las células ES recombinantes homólogas con alteración específica del gen *X* sobreviven

FIGURA 22-14 Formación y selección de células ES recombinantes murinas en las que se ha alterado un gen seleccionado. a) En el constructo de inserción sometido a ingeniería genética, el gen seleccionado se altera con el gen *neo*^{R}, y el gen de la timidincinasa *tk*^{HSV} se localiza fuera del gen seleccionado. El constructo se transfecta en células ES cultivadas. Si ocurre recombinación homóloga, sólo el gen seleccionado y el gen *neo*^{R} se insertan en el DNA cromosómico de las células ES. Si ocurre recombinación no homóloga, se insertan los tres genes. Hay recombinación en sólo alrededor de 1% de las células, y la recombinación no homóloga es mucho más frecuente que la homóloga. b) La selección con el fármaco G418 tipo neomicina mata a todas las células ES no recombinantes porque carecen del gen *neo*^{R}. La selección con ganciclovir mata a las recombinantes no homólogas portadoras del gen *tk*^{HSV}, que confiere sensibilidad al ganciclovir. Sólo las células recombinantes ES homólogas sobreviven a este esquema de selección. *[Adaptada de H. Lodish et al., 1995,* Molecular Cell Biology, *3rd ed., Scientific American Books.]*

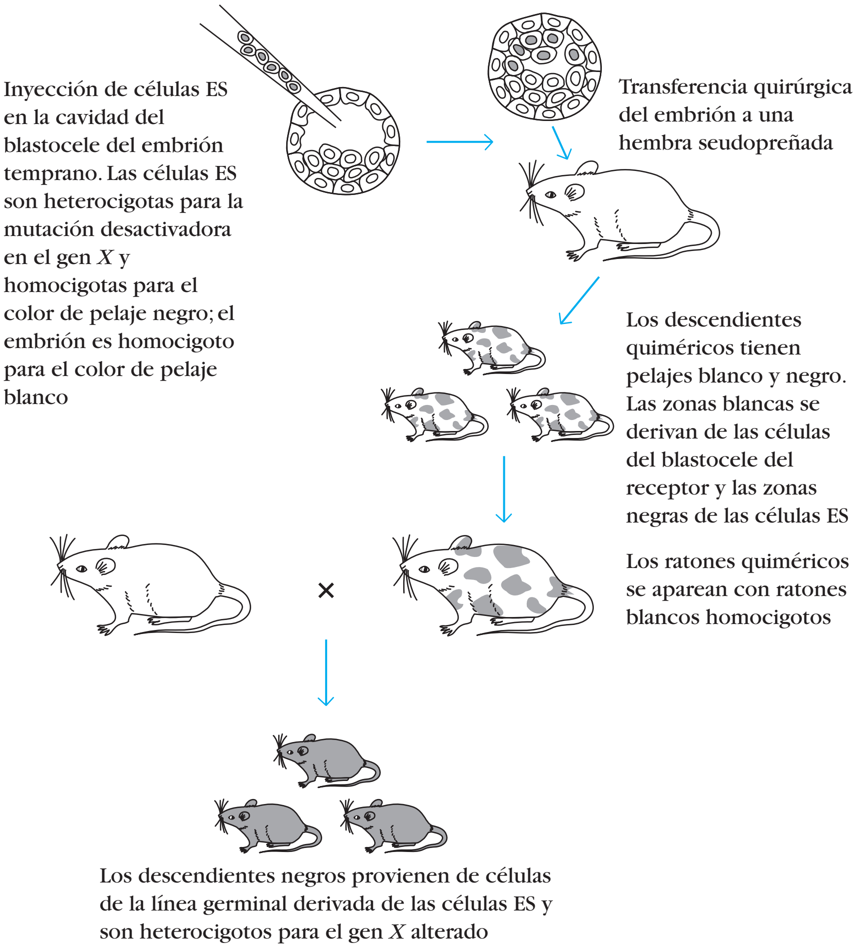
dor visible) y se inyectan a un blastocisto homocigoto para el color de pelaje blanco, es posible identificar los descendientes quiméricos portadores de la mutación knockout heterocigota en su línea germinal (fig. 22-15). Cuando estos animales se aparean entre sí, algunos de sus descendientes son homocigotos para la mutación knockout.

La tecnología *"knock-in"* permite reemplazar un gen endógeno

Además de suprimir un gen seleccionado, también es posible reemplazar un gen endógeno por una forma mutada de dicho gen, o sustituir completamente el gen endógeno por una secuencia de DNA elegida. En un informe reciente, por ejemplo, se reemplazó el gen CD4 por uno para la β-galactosidasa. En este experimento, el promotor CD4 se dejó intacto para controlar la expresión de la β-galactosidasa, que cataliza el cambio de color de ciertos químicos indicadores al azul. Como el promotor CD4 impulsó la expresión de la β-galactosidasa, sólo las células tímicas destinadas a expresar el CD4 se tornaron azules en presencia de los químicos indicadores. Los datos de estos experimentos fueron de utilidad para rastrear el compromiso del linaje CD4/CD8 en las células T en desarrollo.

La selección de genes inducibles por el sistema Cre/*lox* tiene como finalidad la supresión génica

Además de la supresión de genes por selección génica, en fecha reciente se han desarrollado medidas experimentales que permiten la supresión específica de un gen de interés precisamente en el tejido deseado. Estas tecnologías se basan en la utilización de recombinasas específicas de sitio de bacterias o levaduras. La recombinasa empleada más a menudo es Cre, aislada del bacteriófago P1. Cre reconoce un sitio específico de 34 bp en el DNA denominado *loxP* y, tras la identificación, cataliza una recombinación. Por tanto, Cre reconoce las secuencias de DNA flanqueadas por *loxP*, y el suceso de recombinación tiene como resultado la supresión de las secuencias de DNA intermedias. En otras palabras, los animales que expresan de manera generalizada la recombinasa Cre suprimen todas las secuencias flanqueadas por *loxP.* La innovación real de esta técnica consiste en que se puede controlar la expresión del gen de la recombinasa Cre con el empleo de un promotor específico de tejido. Esto hace posible la expresión específica de tejido de la proteína recombinasa y, por este motivo, la supresión del DNA flanqueado por *loxP.* Por ejemplo, podría expresarse Cre en células B mediante



Inyección de células ES en la cavidad del blastocele del embrión temprano. Las células ES son heterocigotas para la mutación desactivadora en el gen *X* y homocigotas para el color de pelaje negro; el embrión es homocigoto para el color de pelaje blanco

Transferencia quirúrgica del embrión a una hembra seudopreñada

Los descendientes quiméricos tienen pelajes blanco y negro. Las zonas blancas se derivan de las células del blastocele del receptor y las zonas negras de las células ES

Los ratones quiméricos se aparean con ratones blancos homocigotos

Los descendientes negros provienen de células de la línea germinal derivada de las células ES y son heterocigotos para el gen *X* alterado

FIGURA 22-15 **Procedimiento general para la producción de ratones knockout homocigotos.** Se inyectan células ES homocigotas para un gen marcador (p. ej., de pelaje negro) y heterocigotas para un gen seleccionado alterado (fig. 22-16) en un embrión temprano homocigoto para un marcador alterno (p. ej., color de pelaje blanco). Los descendientes transgénicos quiméricos, que tienen pelaje blanco y negro, se aparean a continuación con ratones homocigotos de pelaje blanco. Los descendientes del todo negros de este apareamiento tienen células derivadas de las ES en su línea germinal, que son heterocigotas para el gen seleccionado alterado. La cruza de estos ratones entre sí produce animales homocigotos para el gen seleccionado trastornado, es decir, ratones con desactivación génica o knockout. *[Adaptada de M. R. Capecchi, 1989,* Trends in Genetics ***5****:70.]*

una inmunoglobulina promotora, lo que provocaría supresión dirigida de las secuencias de DNA flanqueadas por *loxP* sólo en las células B.

Esta tecnología es de utilidad particular cuando la supresión dirigida de un gen determinado es letal. Por ejemplo, se requiere el gen de la polimerasa β del DNA para el desarrollo embrionario. En experimentos diseñados para investigar el sistema Cre/*lox*, los científicos flanquearon al gen de la polimerasa β del DNA murino con *loxP* y aparearon a estos ratones con otros portadores de un transgén Cre bajo el control de un promotor de la célula T (fig. 22-16a). Los resultados de este apareamiento son descendientes que expresan la recombinasa Cre de manera específica en las células T, lo cual permite a los científicos examinar los efectos de suprimir la enzima polimerasa β de DNA específicamente en las células T. Los efectos de la deleción de este gen no podrían examinarse en un experimento ordinario de desactivación génica, ya que la supresión de la polimerasa β de DNA en todo el organismo resultaría letal. Con el sistema Cre/*lox* es posible valorar los efectos de la deleción génica en un solo tejido específico.

El sistema Cre/*lox* puede utilizarse también para activar la expresión génica en un tejido determinado. Del mismo modo que la falta de un gen particular puede ser letal durante el desarrollo embrionario, su expresión puede ser tóxica. Es posible, para examinar la expresión específica de tejido de un gen de esta clase, insertar una secuencia de detención traslacional flanqueada por *loxP* en un intrón al principio del gen (fig. 22-16b). Usando un promotor específico de tejido que impulse la expresión de Cre, es posible suprimir la secuencia de detención en el tejido elegido y examinar en éste la expresión del gen potencialmente tóxico. Estas modificaciones de la tecnología de selección de genes han resultado de mucha utilidad para identificar los efectos de genes particulares en las células y los tejidos del sistema inmunitario.

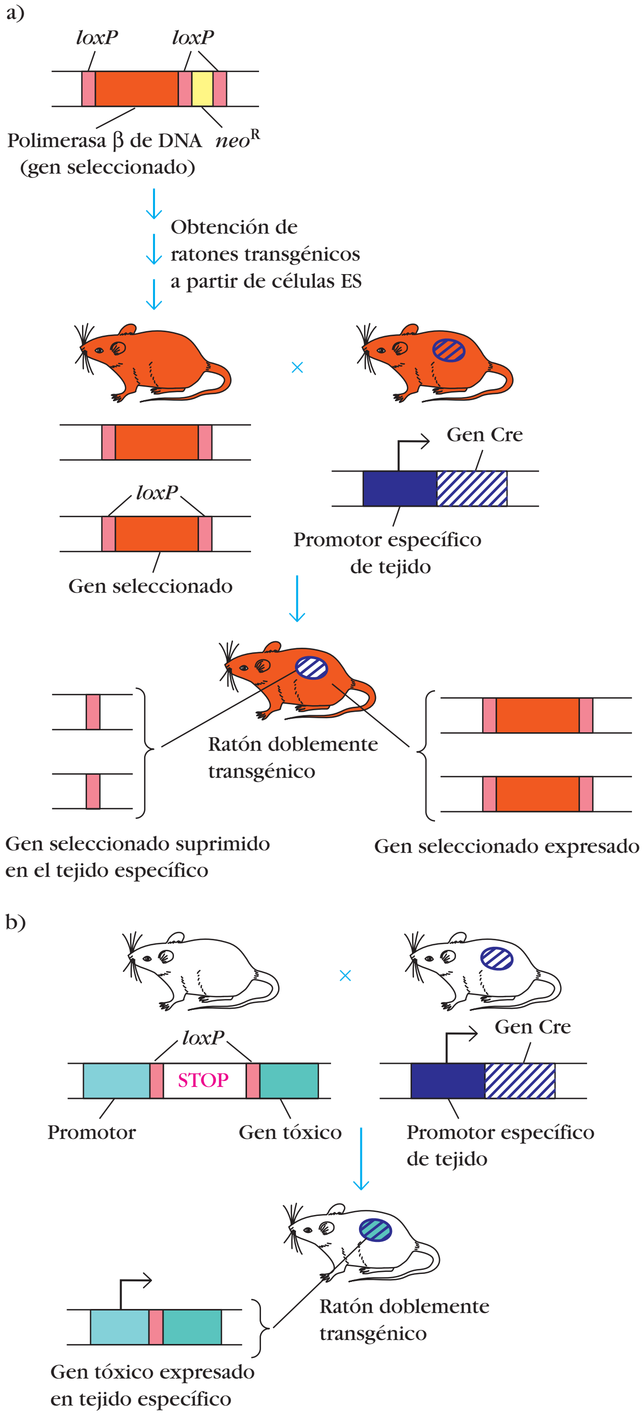


FIGURA 22-16 Selección de un gen con Cre/*loxP*. a) Supresión condicional mediante recombinasa de Cre. El gen β de la polimerasa de DNA seleccionado se modifica al flanquearlo con sitios *loxP* (con fines de simplificación se ilustra sólo un alelo). Se generan ratones a partir de las células ES por medio de procedimientos estándares. El apareamiento de un ratón *loxP* modificado con un ratón Cre transgénico genera ratones doblemente transgénicos en los que se suprime el gen β de la polimerasa de DNA flanqueado por *loxP* en el tejido que expresa Cre. En este ejemplo, Cre se expresa en el tejido tímico (con franjas), de modo que la supresión del gen flanqueado por *loxP* ocurre sólo en el timo (color blanco) del ratón doblemente transgénico. Otros tejidos y órganos continúan la expresión del gen flanqueado por *loxP* (anaranjado). b) Activación de la expresión génica mediante Cre/*lox*. Se inserta un estuche STOP traduccional flanqueado por *loxP* entre el gen promotor y el gen potencialmente tóxico, y se generan ratones a partir de las células ES por los procedimientos estándares. Estos ratones se aparean con los de una línea transgénica portadora del gen Cre activado por un promotor específico de tejido. En este ejemplo, Cre se expresa en el timo, de manera que el apareamiento tiene como resultado la expresión del gen tóxico (azul) sólo en el órgano mencionado. Por medio de esta estrategia es posible determinar los efectos de la expresión del gen potencialmente tóxico de una manera específica de tejido. *[Adaptada de B. Sauer, 1998,* Methods ***14****:381.]*

Microarreglos: método para analizar patrones de expresión génica

En los últimos años ha surgido un nuevo método diseñado para valorar las diferencias de la expresión génica entre diversos tipos de células o entre las mismas células en distintas condiciones. Esta práctica, denominada tecnología de microarreglos (o micromatrices) o *perfil de expresión génica*, tiene la capacidad de investigar de manera rápida y confiable grandes cantidades de mRNA diferentes. El principio es simple, y se deriva de lo que se conoce en la actualidad sobre la hibridación de RNA y DNA. Se aísla el mRNA de una muestra determinada; luego, cuando se inicia la síntesis del cDNA, la primera cadena de éste se marca para formar una reserva de secuencias blanco.

En el siguiente paso el cDNA marcado se hibrida con ácido nucleico fijo en un microarreglo. Existen muchos microarreglos disponibles en el comercio, que son principalmente de dos clases: los compuestos por cDNA y los compuestos por oligonucleótidos. Los de cDNA son, como su nombre lo indica, un conjunto de moléculas de cDNA que se han dispuesto, o arreglado, sobre un sustrato sólido en localizaciones definidas (fig. 22-17a). El sustrato varía, pero suele ser una membrana de nylon o un portaobjetos de vidrio. Los puntos o manchas de cDNA dispuestos sobre el sustrato pueden ser de apenas 5 a 10 μm, y se han colocado más de un millón de ellas en pastillas (chips) de unos cuantos centímetros de diámetro. El proceso de disponer el cDNA se realiza mediante robótica. Los cDNA se obtienen más a menudo de bibliotecas de cDNA disponibles y, en algunos casos, son productos de PCR amplificados a partir de la biblioteca de cDNA usando cebadores específicos para ciertos genes conocidos.

Los arreglos de oligonucleótidos suelen ser un conjunto de cadenas de 20 a 25 nucleótidos de largo (fig. 22-17b), sintetizadas directamente en la superficie del arreglo utilizando técnicas de fotolitografía con las que es posible sintetizar de manera económica diferentes oligonucleótidos específicos de secuencia en cada punto. La ventaja de este tipo de distribución consiste en que sólo se necesitan secuencias de los genes de interés; no se requiere una biblioteca de cDNA.

Aunque la fuente de los blancos usados para los arreglos de cDNA y de oligonucleótidos es el propio cDNA, la preparación del blanco difiere con el microarreglo. La preparación del blanco para los arreglos de diversos cDNA consiste en marcar a éstos

ENFOQUE CLÍNICO

Análisis de microarreglos como instrumento diagnóstico para las enfermedades humanas

Es casi imposible distinguir de manera visual entre las células B y T sin análisis molecular. De manera semejante, puede ser muy difícil hacerlo entre un tumor y otro. Dos de las leucemias agudas mejor conocidas son la leucemia mieloide aguda (AML, del inglés *acute myeloid leukemia*), que se origina en un precursor mieloide (de ahí su nombre) y la leucemia linfoide aguda (ALL, del inglés *acute lymphoid leukemia*), que procede de precursores linfoides. Ambas leucemias se derivan de células madre hematopoyéticas, pero el pronóstico y el tratamiento de las dos enfermedades son muy distintos. Hasta hace poco, estos dos trastornos podían diagnosticarse con cierto grado de confianza mediante una combinación de determinación del fenotipo de superficie, análisis del cariotipo y análisis histoquímico, pero ninguna de las pruebas tenía resultados concluyentes; el diagnóstico confiable dependía de la pericia del clínico.

Diagnosticar ALL o AML puede representar la diferencia entre la vida y la muerte. La ALL reacciona mejor a los corticosteroides y los quimioterápicos como vincristina y metotrexato. La AML suele tratarse con daunorrubicina y citarabina. Las tasas de curación disminuyen de manera impresionante si se administra el tratamiento menos apropiado a causa de un diagnóstico erróneo.

En 1999 ocurrió un gran progreso en el diagnóstico de estas dos leucemias gracias a la tecnología de microarreglos. Todd Golub, Eric Lander y sus colaboradores aislaron RNA de 38 muestras de leucemia aguda, marcaron este RNA con biotina e hibridaron el RNA biotinilado con microarreglos comerciales de alta densidad que contenían oligonucleótidos correspondientes a unos 6 817 genes humanos. Se observaba hibridación en todos los casos en que el RNA marcado con biotina reconocía un oligonucleótido homólogo. El análisis reveló un grupo de 50 genes que tenían una relación sólida con AML o ALL cuando se efectuaron comparaciones con muestras testigos. Estos 50 genes se emplearon después para muestrear el ácido nucleico de 34 leucemias independientes, así como para obtener muestras de 24 ejemplares de médula ósea humana o sangre al parecer normales. ¿Resultado? Grupo de marcadores que diferenciaban con toda claridad los casos de estas neoplasias como ALL o AML.

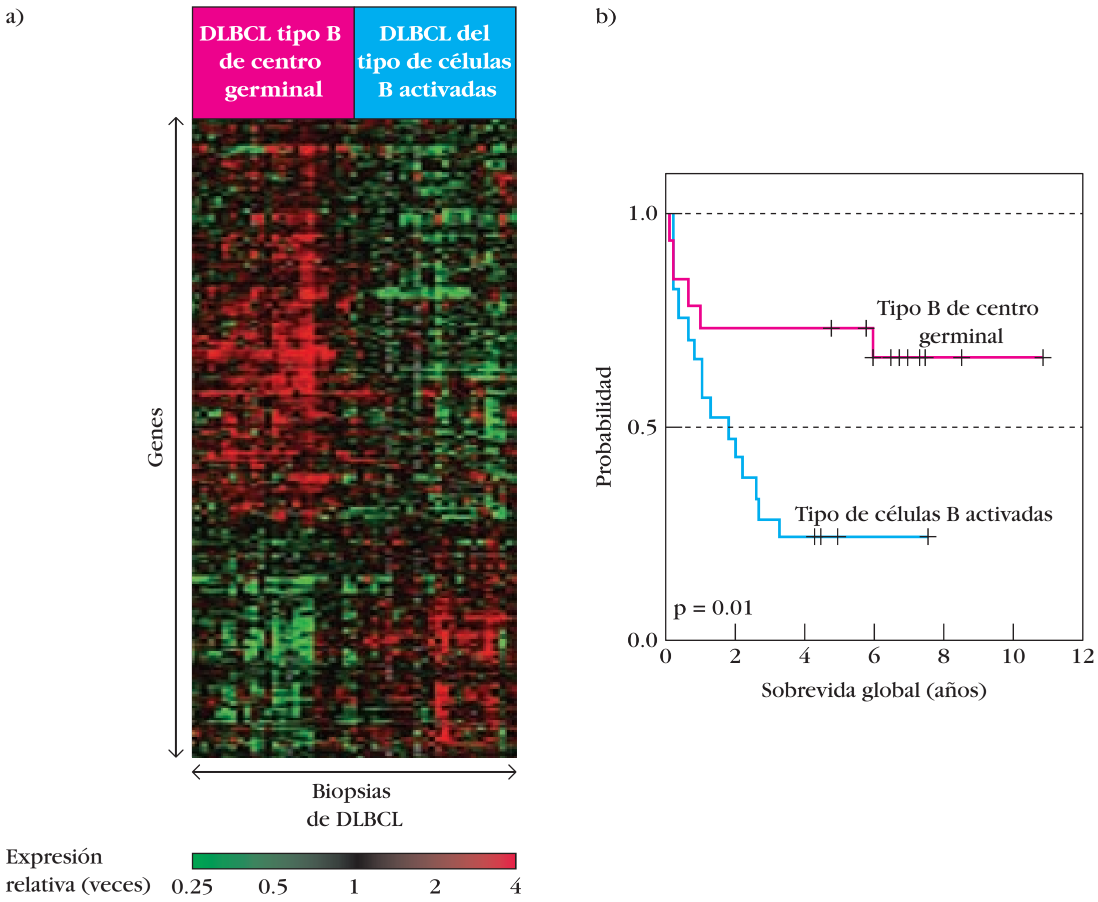
Los resultados del análisis de microdistribución sugirieron además que era posible dirigir con mayor exactitud los tratamientos de AML y ALL. Por ejemplo, la AML que expresa genes *x, y* y *z* debía reaccionar a una modalidad terapéutica mejor que la AML que expresa los genes *a, b* y *c*. Diversas empresas farmacéuticas han establecido grupos de investigación para que valoren los diferentes tratamientos para los tumores que se basan en el perfil de microarreglos de éstos. Se espera que este criterio de diseñador aplicado a la oncología produzca tratamientos mucho más eficaces de los tumores individuales y, en última instancia, incremento de las tasas de supervivencia.

Es muy probable que el análisis de microarreglos tenga utilidad en el diagnóstico de los tumores del sistema inmunitario. Lo que es de gran importancia, un laboratorio de los National Institutes of Health (NIH) ha desarrollado un microarreglo de DNA especializado que contiene más de 10 000 cDNA humanos enriquecidos con genes expresados en los linfocitos. Algunos de estos cDNA provienen de genes con una función conocida y otros son no identificados que se derivan de catálogos de cDNA de linfocitos normales o transformados de manera maligna. Esta distribución especializada se denomina Lymphochip porque los cDNA linfocíticos se distribuyen en una tableta (“chip”) de silicio. Los miembros del grupo de los NIH preguntaron si podría emplearse el Lymphochip para dividir la leucemia de células B conocida como linfoma difuso de células B grandes (DLBCL) en subconjuntos, planteamiento de gran importancia porque este tipo de linfoma muestra una evolución clínica muy variable, con algunos pacientes que reaccionan bien al tratamiento y otros que lo hacen mal. Los primeros intentos por definir los subconjuntos de este grupo han sido infructuosos. Sería de utilidad una definición de los subconjuntos del DLBCL para diseñar tratamientos más eficaces. El grupo del National Cancer Institute (NCI) identificó dos subconjuntos de DLBCL distintos desde el punto de vista genotípico. Un grupo estaba constituido por tumores que expresaban genes característicos de las células B de centro germinal, y se denominó “DLBCL del tipo B de centro germinal” (véase figura adjunta, parte a). El otro grupo parecía más de células B activadas y se denominó “DLBCL del tipo de células B activadas”. Es de importancia que los sujetos con DLBCL del tipo B de centro germinal tuvieron una supervivencia más elevada que los que experimentaban DLBCL del tipo de células B activadas. En condiciones normales, todos los individuos con DLBCL reciben quimioterapia con múltiples agentes. Los que no reaccionan bien a la quimioterapia se consideran candidatos al trasplante de médula ósea. Los datos obtenidos en este estudio sugieren que los enfermos con DLBCL del tipo de células B activadas no reaccionarán tan bien a la quimioterapia y podrían beneficiarse más del trasplante de médula ósea poco después de establecido el diagnóstico. Como resultado direc-

---

con diferentes colorantes fluorescentes como Cy3 y Cy5 (fig. 22-17a). Estos pigmentos a base de cianina se conjugan fácilmente con ácidos nucleicos, son muy estables y emiten menos fluorescencia de fondo que los colorantes fluorescentes ordinarios. Si se desea comparar dos tipos diferentes de células, o un tipo de célula en dos estados diferentes de activación, se prepara cDNA de una población usando mRNA como plantilla. Primero, la síntesis de la cadena de mRNA se realiza usando un nucleótido conjugado con Cy3. Luego, usando mRNA de la segunda población de células se prepara cDNA con un nucleótido conjugado con Cy5. Estas dos poblaciones de cDNA, una marcada con Cy3 y la otra con Cy5, se someten a hibridación con el microarreglo. Si uno de los blancos se hibrida con un cDNA del arreglo, se percibe emisión de fluorescencia verde (Cy3) o roja (Cy5). Si ambos se hibridan con el cDNA, la fluorescencia percibida es de color amarillo (combinación de las emisiones roja y to de estas investigaciones, se valora en la actualidad en estudios clínicos la mejor manera de tratar a los pacientes con DLBCL del tipo de células B activadas.

La determinación del perfil de expresión génica no se restringe al diagnóstico del cáncer. Esta tecnología ofrece una oportunidad única de examinar las diferencias entre cualesquiera poblaciones definidas de células. Es posible comparar los genes que se expresan en común o de manera diferenciada en una célula T virgen y una célula T de memoria. ¿Cuál es la diferencia entre una célula T normal y una célula T que muere por apoptosis? Comparaciones como ésta serán fuente de reflexión para comprender las diferencias entre las poblaciones celulares. La clave para emplear esta valiosa información será el desarrollo de instrumentos que permitan analizar las grandes cantidades de datos que se pueden obtener gracias a este nuevo criterio.



El linfoma difuso de células B grandes (**DLBCL**, del inglés *difuse large B-cell lymphoma*) representa al menos dos enfermedades distintas. a) Se ilustran diferencias de expresión génica entre muestras obtenidas de pacientes con DLBCL tipo B de centro germinal (*izquierda*, rojo) y DLBCL tipo de células B activadas (*derecha*, azul). La expresión relativa de 100 genes (eje *y*) que distingue de mejor manera entre ambos tipos de DLBCL se registra sobre un espectro de factor de 16 mediante la escala cromática graduada de la parte inferior. Obsérvense los perfiles de expresión génica notablemente distintos de ambos trastornos. b) Gráfica de la sobrevida promedio del paciente con DLBCL tras la quimioterapia. Los perfiles de expresión génica de las biopsias tumorales permiten asignar a los enfermos a las categorías diagnósticas correctas y pueden contribuir al tratamiento de esta compleja enfermedad. *[Adaptada de L. M. Staudt, 2002, Gene expression profiling of lymphoid malignancies,* Annual Review of Medicine ***53:****303-318.]*

verde de ambos colorantes). Los arreglos se analizan barriéndolos con dos longitudes de onda diferentes para distinguir entre las señales Cy3 y Cy5. Se determinan y comparan las intensidades de señal de cada colorante, y los resultados se presentan como una razón entre las dos muestras.

En el caso de los microarreglos basados en oligonucleótidos, el método usual consiste en marcar el cDNA blanco con un nucleótido marcado a su vez con biotina durante la síntesis de la primera cadena de mRNA. El cDNA marcado con biotina se hibrida con el arreglo de oligonucleótidos y se identifica mediante el colorante fluorescente estreptavidina (fig. 22-17b). Luego se repite el procedimiento con el cDNA del otro tipo celular y se utiliza otro microarreglo. Los microarreglos resultantes se analizan mediante fosforescencia o barrido basado en fluorescencia con sensores especializados desarrollados de manera específica para barrido de microarreglos.

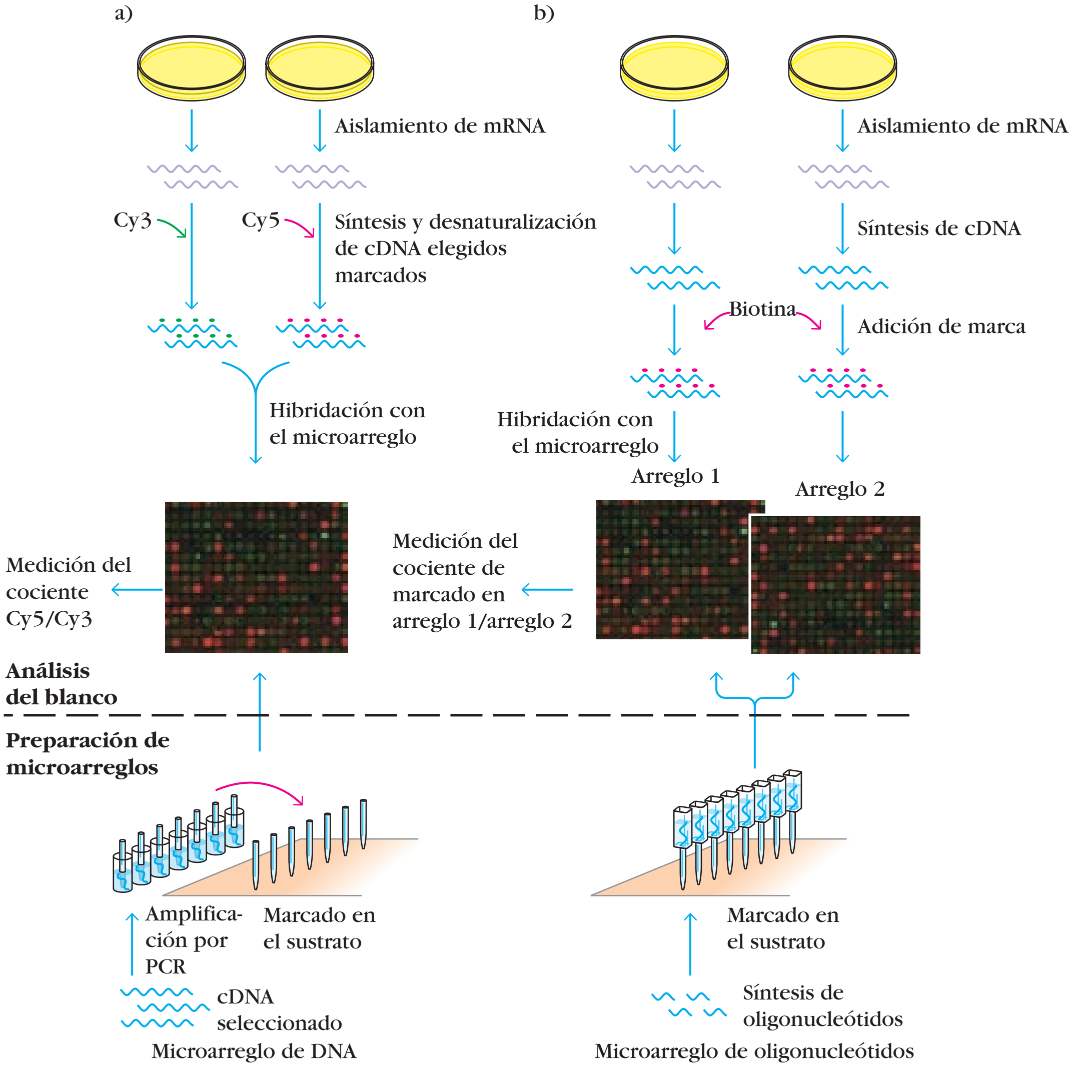

a)
b)
Aislamiento de mRNA
Cy3
Cy5
Síntesis y desnaturalización de cDNA elegidos marcados
Hibridación con el microarreglo
Medición del cociente Cy5/Cy3
Aislamiento de mRNA
Síntesis de cDNA
Biotina
Adición de marca
Hibridación con el microarreglo
Arreglo 1
Arreglo 2
Medición del cociente de marcado en arreglo 1/arreglo 2
Análisis del blanco
Preparación de microarreglos
Amplificación por PCR
Marcado en el sustrato
cDNA seleccionado
Microarreglo de DNA
Marcado en el sustrato
Síntesis de oligonucleótidos
Microarreglo de oligonucleótidos

FIGURA 22-17 Análisis de microarreglos de DNA mediante microarreglos de cDNA (a) o microarreglos de oligonucleótidos de alta densidad (b). Como se describe en el texto, el análisis de microarreglos se basa en el aislamiento de RNA a partir de los tejidos o las células por analizar, la conversión del RNA en cDNA y el marcado posterior del DNA durante la preparación de los blancos. Las secuencias elegidas marcadas se hibridan en un microarreglo de cDNA (a) o de oligonucleótidos (b).

No hay duda sobre la utilidad de la tecnología de los microarreglos en la inmunología. Uno podría preguntarse cuál es la diferencia en expresión génica entre las células T y B, o qué diferencia existe entre una célula T activada y una en reposo. La lista de posibles comparaciones es inmensa. Para empezar a plantear algunas de las preguntas de interés en inmunología, Louis Staudt y colaboradores, de los NIH, desarrollaron un arreglo que llamaron "Lymphochip", el cual consiste en más de 10 000 genes humanos y está enriquecido con genes expresados en las células linfoides. Contiene también genes de linfocitos normales y linfocitos transformados. Este microarreglo particular ha ofrecido abundante información de utilidad, por ejemplo un perfil de células T comparadas con células B, células plasmáticas comparadas con células B de centro germinal, y patrones de expresión génica inducida por varias vías de señalización. En el enfoque clínico se describen el Lymphochip y otras aplicaciones clínicas de los microarreglos.

Microscopia bifotónica para visualización in vivo del sistema inmunitario

Hasta hace poco, para el examen microscópico de las células del sistema inmunitario se usaban técnicas que aíslan las células de su ambiente circundante y que, en muchos casos, fijan las células o tejidos. Los datos obtenidos con estos métodos han sido extraordinariamente valiosos, pero representan una instantánea y no una secuencia dinámica de interacciones célula a célula del cuerpo durante una inmunorreacción. Un desarrollo reciente, la microscopia láser bifotónica, permite la visualización directa en tiempo real de interacciones in vivo entre células del sistema inmunitario.

El desarrollo de la microscopia bifotónica tiene sus raíces en la microscopia confocal. Aunque la microscopia fluorescente estándar puede detectar células marcadas o “etiquetadas” en una monocapa sobre un portaobjetos o una placa de cultivo, la microscopia confocal tiene la enorme ventaja de “ver” en profundidad en cortes de tejidos, haciendo innecesarios los cortes delgados o el aislamiento de células en un portaobjetos. Incluso permite visualizar células vivas en tejidos, pero el haz láser necesario provoca efectos de blanqueamiento y fototoxicidad. Las moléculas fluorescentes son excitadas por un haz láser concentrado por una lente en un punto focal, la fuente de la imagen. La emisión del material fluorocromático se colecta a través de la misma lente y se reenfoca en un punto centrado en una pequeña abertura frente a un detector. La energía generada a lo largo de la trayectoria de excitación puede dañar y destruir las células a su paso. Además, la profundidad de detección en un corte de tejido se limita a unas cuantas decenas de micrómetros.

La microscopia bifotónica, como la confocal, es capaz de realizar “cortes ópticos” del material que se examina sin causar daño fototóxico. También permite visualizar tejidos a profundidades que van de varios cientos de micrómetros a más de un milímetro, lo que excede con mucho el alcance de la microscopia confocal.

Las diferencias en las capacidades de ambas técnicas pueden comprenderse si se comparan las tecnologías en que se basan. En la microscopia confocal se usa un fotón único de luz para excitar el material fluorocromático. En contraste, en la microscopia bifotónica, como el nombre indica, el mismo material se excita con dos fotones de luz, cada uno con la mitad de la energía del fotón único usado en la microscopia de fluorescencia estándar. Los materiales fluorocromáticos son excitados por el suministro altamente enfocado y a gran velocidad de dos pulsos láser muy cortos (de unos 100 femtosegundos, fs). En la microscopia confocal, un material fluorocromático como la fluoresceína es excitado por un fotón láser a 400 nm; el mismo material puede ser excitado por dos pulsos de luz en la región del infrarrojo cercano a 800 nm (la mitad de la energía de un fotón de 400 nm) si los pulsos llegan a él de manera casi simultánea. La intensidad plena sólo se alcanza en el punto focal, y el resto del tejido no es afectado por los fotones, de mayor longitud de onda. En resumen, la principal ventaja de este sistema es que la excitación se limita al plano focal, y el resto del espécimen se expone a pulsos relativamente inofensivos y extremadamente cortos de luz en el infrarrojo cercano. Además, dado que las longitudes de onda mayores usadas para la excitación no son absorbidas de manera eficiente por el tejido, es posible una penetración más profunda de la muestra biológica. En efecto, como se observa en la figura 11-19, ahora es posible visualizar un ganglio linfático en tejido intacto de un animal vivo tras la inyección de antígeno.

Avances en la tecnología de fluorescencia

Además de los materiales fluorocromáticos usados de manera sistemática en la microscopia y la citometría de flujo, como isotiocianato de fluoresceína, rojo Texas, isotiocianato de rodamina y ficoeriterina, han salido al mercado varios nuevos recursos fluorescentes. En particular, la proteína emisora de fluorescencia verde (GFP, del inglés *green fluorescent protein*) y sus múltiples derivados han sido en extremo útiles en el análisis tanto de células y tejidos vivos como fijos. La GFP es una proteína bioluminiscente natural que se aisló por primera vez de medusas. Los especialistas en biología celular han aprovechado sus propiedades de fluorescencia natural para marcar productos génicos. Si a un gen de interés se une el gen para la GFP o una de sus variantes espectrales, como la proteína emisora de fluorescencia amarilla (YFP), el gen resultante emite fluorescencia al ser excitado por un haz láser. Por ejemplo, una cadena ligera κ de inmunoglobulina fusionada en la secuencia correcta con GFP marcaría con fluorescencia todas las células que expresaran cadenas ligeras κ. La emisión causada por la excitación de estas marcas puede visualizarse por microscopia de fluorescencia o detectarse por citometría de flujo, y sirve como indicador de células que expresan el gen marcado. También es posible producir animales transgénicos que expresan GFP bajo el control de un promotor específico de tejido.

Otro material fluorocromático útil, el éster succinmidilacetato de 5,6-carboxifluoresceína, o CFSE, puede cargarse en células ex vivo. Por ejemplo, es posible extraer células linfoides de un animal, cargarlas con CFSE e introducirlas en el mismo animal o en un miembro singénico de la misma cepa. Una vez que se han dirigido a diversos sitios del sistema inmunitario, estas células pueden visualizarse por fluorescencia. La CFSE incluso puede usarse para determinar si una célula se ha dividido. En la división celular, la CFSE se distribuye por igual entre las células hijas, y cada generación se hace cada vez menos fluorescente. Utilizando CFSE y citometría de flujo, es fácil determinar si una población de células ha experimentado división celular e incluso el número de veces que una célula se ha dividido.

RESUMEN

- Las cepas murinas endogámicas permiten a los inmunólogos trabajar de manera sistemática con animales singénicos o idénticos desde el punto de vista genético. Con estas cepas se pueden estudiar aspectos de la reacción inmunitaria no complicados por variables desconocidas que las diferencias genéticas entre los animales podrían introducir.
- En los experimentos de transferencia adoptiva, los linfocitos se transfieren de un ratón a otro ratón receptor singénico que se ha expuesto a una dosis de rayos X subletal (o tal vez letal). La radiación desactiva las células inmunitarias del animal receptor, de modo que es posible estudiar la reacción de sólo las células transferidas.
- Con los sistemas de cultivo celular in vitro se pueden estudiar poblaciones de linfocitos bajo condiciones definidas con precisión. Estos sistemas consisten en cultivos primarios de células linfoides, líneas celulares linfoides clonadas y líneas celulares linfoides híbridas. A diferencia de los cultivos primarios, las líneas celulares son inmortales y homogéneas.
- Las técnicas bioquímicas son instrumentos de utilidad para marcar proteínas importantes del sistema inmunitario. Marcar los anticuerpos con moléculas como biotina y avidina posibilita determinar con precisión el nivel de la reacción de anticuerpo. La electroforesis en gel es un instrumento muy adecuado para separar una proteína y determinar su peso molecular.

- La capacidad de identificar, clonar y definir la secuencia de genes del sistema inmunitario mediante técnicas de DNA recombinante ha revolucionado el estudio de todos los aspectos de la inmunorreacción. Se pueden clonar el cDNA (que se prepara al transcribir mRNA con inversotranscriptasa) y el DNA genómico. En general, el cDNA se clona con un vector plásmido; el DNA recombinante que contiene el gen por clonar se propaga en células de *E. coli*. El DNA genómico se puede clonar dentro de un vector bacteriófago o uno cósmido, ambos propagados en *E. coli*. Incluso es posible clonar fragmentos más grandes de DNA genómico con vectores de bacteriófago P1, que pueden multiplicarse en *E. coli*, o de cromosomas artificiales de levaduras, que se multiplican en células de esta misma clase. La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) es un instrumento conveniente para amplificar cantidades pequeñas de DNA.

- La transcripción de genes es regulada por secuencias promotoras e intensificadoras; la actividad de estas secuencias está bajo el control de proteínas de unión a DNA. Puede recurrirse al análisis de huellas de DNA y al análisis de retardo en gel para identificar proteínas de unión a DNA y sus sitios de fijación dentro de las secuencias promotora o intensificadora. La actividad promotora puede valorarse por medio de genes indicadores, como en los ensayos de luciferasa y de proteína emisora de fluorescencia verde.

- Los genes clonados se pueden transfectar (transferir) a células cultivadas por diversos métodos. Por lo común, los genes del sistema inmunitario se transfectan a células que normalmente no expresan el gen de interés. Los genes clonados también pueden incorporarse en las células de la línea germinal de embriones de ratón, con lo que se obtienen ratones transgénicos capaces de transmitir el transgén incorporado a sus descendientes. A continuación es posible estudiar la expresión de un gen seleccionado en un animal viviente. Los ratones con desactivación génica son animales transgénicos en los que se ha reemplazado un gen seleccionado particular por una forma no funcional del gen, de modo que no expresan el producto génico. El sistema Cre/*lox* constituye un mecanismo que permite la expresión o la supresión específica de tejido de un gen en particular.

- Los microarreglos, instrumentos poderosos para examinar la expresión de genes específica de tejido y comparar la expresión de genes en distintas células, han revolucionado el estudio de la regulación y la expresión génicas.

- La microscopia bifotónica permite observar células de manera continua en su ambiente biológico, y de este modo contar con una secuencia temporal del comportamiento de los linfocitos después de que se ha manipulado el sistema inmunitario.

Bibliografía

Alizadeh A. A., et al. 2000. Distinct types of diffuse large B-cell lymphoma identified by gene expression profiling. *Nature* 2000 **403:**503-11.

Bell, J. 1989. The polymerase chain reaction. *Immunology Today* **10:**351.

Betz, U. A. K., et al. 1996. Bypass of lethality with mosaic mice generated by Cre-*loxP*-mediated recombination. *Current Biology* **6:**1307.

Calahan, M. D., et al. 2002. Two-photon tissue imaging—seeing the immune system in a fresh light. *Nature Reviews Immunology* **2:**872.

Camper, S. A. 1987. Research applications of transgenic mice. *Biotechniques* **5:**638.

Capecchi, M. R. 1989. Altering the genome by homologous recombination. *Science* **244:**1288.

Denis, K. A., and O. N. Witte. 1989. Long-term lymphoid cultures in the study of B cell differentiation. In *Immunoglobulin Genes*. F. W. Alt, T. Honjo, and T. H. Rabbitts, eds. Academic Press, London, pp. 45-59.

Depamphilis, M. L., et al. 1988. Microinjecting DNA into mouse ova to study DNA replication and gene expression and to produce transgenic animals. *Biotechniques* **6**(7):622.

Golub, T. R., et al. 1999. Molecular classification of cancer: class discovery and class prediction by gene expression monitoring. *Science* **286:**531.

Koller, B. H., and O. Smithies. 1992. Altering genes in animals by gene targeting. *Annual Review of Immunology* **10:**705.

Meinl, E., et al. 1995. Immortalization of human T cells by *herpesvirus saimiri. Immunology Today* **16:**55.

Melton, D. W. 1994. Gene targeting in the mouse. *BioEssays* **16:**633.

Miller, M. J., et al. 2002. Two-photon imaging of lymphocyte motility and antigen response in intact lymph node. *Science* **296:**1869.

Sauer, B. 1998. Inducible gene targeting in mice using the Cre/*lox* system. *Methods* **14:**381.

Schlessinger, D. 1990. Yeast artificial chromosomes: tools for mapping and analysis of complex genomes. *Trends in Genetics* **6**(8):254.

Sharpe, A. H. 1995. Analysis of lymphocyte costimulation in vivo using transgenic and knockout mice. *Current Opinion in Immunology* **7:**389.

Shaffer, A. L., et al. 2001. Signatures of the immune response. *Immunity* **15:**375-85.

Schulze, A., and J. Downward. 2001. Navigating gene expression using microarrays—a technology review. *Nature Cell Biology* **3:**E190-5.

Sitios útiles de la red

http://www.jax.org/

Página de The Jackson Laboratory, el proveedor más importante de ratones endogámicos del mundo.

http://www.neb.com/

Página de New England Biolabs, empresa dedicada a la biología molecular. Se encuentra aquí, bajo el encabezado Technical Reference, información de utilidad sobre las enzimas de restricción.

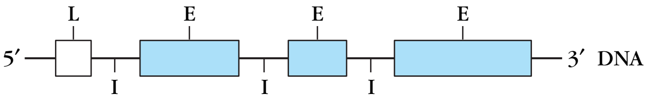
http://www.public.iastate.edu/~pedro/research_tools.html

Página web de gran utilidad sobre biología molecular, que contiene referencias a muchas fuentes de información. Se actualiza con regularidad.

Preguntas de estudio

PREGUNTA DE ENFOQUE CLÍNICO ¿Cómo ha cambiado la tecnología de microarreglos el diagnóstico de las enfermedades y de qué manera es probable que influya en el tratamiento de las enfermedades en el futuro?

1. Explique por qué son falsas las afirmaciones que siguen.
   - a. La secuencia de aminoácidos de una proteína puede determinarse a partir de la secuencia de nucleótidos de una clona genómica que codifica esa proteína.
   - b. Pueden obtenerse ratones transgénicos mediante microinyección de DNA en el núcleo de una célula somática.
   - c. Los cultivos linfoides primarios pueden propagarse de manera indefinida y son de utilidad para los estudios de subpoblaciones específicas de linfocitos.
2. Llene las líneas en blanco en las siguientes afirmaciones con los términos más apropiados:
   - a. En cepas endogámicas de ratones, todos o casi todos los loci genéticos son ___________ ; se dice que estas cepas son ___________.
   - b. Los hibridomas de células B se forman por fusión de ___ ________ con ___________ . Son capaces de proliferación ___________ y se emplean para producir ___________.
   - c. Una célula linfoide normal que experimenta ___________ puede dar origen a una línea celular con lapso de vida _____ _______.
3. El gen esquematizado a continuación contiene una secuencia líder (L), tres exones (E) y tres intrones (I). Ilustre el transcrito primario, el mRNA y el producto proteínico que podrían generarse a partir de ese gen.



4. ¿A cuál de los siguientes conceptos se refiere el término *transfección*?
   - a. Síntesis de mRNA a partir de una plantilla de DNA
   - b. Síntesis de proteína basada en una secuencia de mRNA
   - c. Introducción de DNA extraño en una célula
   - d. Proceso por el que una célula normal se torna maligna
   - e. Transferencia de una señal desde el exterior de una célula hacia su interior
5. ¿Cuál de las siguientes condiciones se requiere para efectuar la PCR?
   - a. Oligonucleótidos cebadores cortos
   - b. Polimerasa del DNA termoestable
   - c. Anticuerpos dirigidos contra la proteína codificada
   - d. Método para calentar y enfriar periódicamente la mezcla reactiva
   - e. Todo lo anterior
6. ¿Por qué es necesario incluir un gen marcador seleccionable en los experimentos de transfección?
7. ¿Cuál sería el resultado si se inyectara un transgén en una de las cuatro células de un cigoto murino en vez de hacerlo en un óvulo de ratón fecundado antes que se divida?
8. Se escinde un plásmido circular con *Eco*RI, lo que produjo una banda de 5.4 kb en un gel. Se observó también una banda de 5.4 kb cuando el plásmido se escindió con *Hind*III. La escisión simultánea del plásmido con ambas enzimas dio por resultado una sola banda de 2.7 kb de largo. Trace un esquema de este plásmido en el que indique la localización relativa de sus sitios de restricción. Explique su razonamiento.
9. El análisis de huellas de DNA es una técnica adecuada para identificar:
   - a. mRNA particulares en una mezcla
   - b. tRNA particulares en una mezcla
   - c. Intrones en un gen
   - d. Sitios de fijación de proteínas dentro del DNA
   - e. Sitios específicos de DNA en que las endonucleasas de restricción escinden la cadena de nucleótidos
10. Explique de forma breve lo que haría para clonar un gen de interleucina 2 (IL-2). Suponga que dispone de un anticuerpo monoclonal específico para IL-2.
11. Tiene usted una muestra de una proteína murina de unión a DNA y el mRNA que la codifica. Suponiendo que dispone además de una biblioteca genómica murina, describa brevemente cómo seleccionaría una clona portadora de un fragmento de DNA que contenga el gen que codifica la proteína de unión.
12. ¿Cuáles son las diferencias mayores entre los ratones transgénicos y los knockout y entre los procedimientos para producirlos?
13. ¿En qué difiere un ratón knock-in de uno knockout?
14. ¿De qué manera la tecnología Cre/*lox* favorece las estrategias knockout y knock-in?
15. Para cada término relacionado con la tecnología de DNA recombinante (a-i), seleccione la descripción más apropiada (1-10) de la lista que sigue. Cada descripción puede emplearse una vez, más de una vez o ninguna vez.

Términos

a. ___________ Cromosoma artificial de levadura
b. ___________ Endonucleasa de restricción
c. ___________ cDNA
d. ___________ Sitios COS
e. ___________ Retrovirus
f. ___________ Plásmido
g. ___________ Biblioteca de cDNA
h. ___________ Extremos pegajosos
i. ___________ Biblioteca genómica

Descripciones

1) Escinde mRNA en sitios específicos
2) Escinde DNA bicatenario en sitios específicos
3) Elemento genético circular que puede duplicarse en células de *E. coli*
4) Se emplea para introducir DNA en células de mamífero
5) Se forma por acción de la inversotranscriptasa
6) Conjunto de secuencias de DNA dentro de vectores plásmidos que representan todas las secuencias de mRNA derivado de una célula

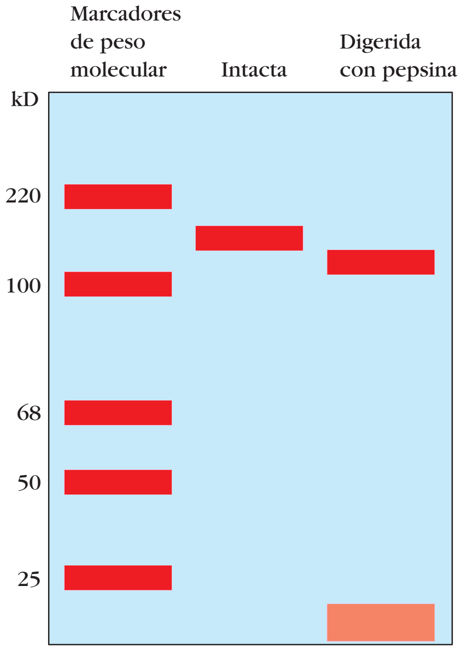
7) Producido por acción de ciertas enzimas de escisión de DNA
8) Se utiliza para clonar secuencias muy grandes de DNA
9) Se usa para introducir fragmentos de DNA más grandes de lo normal en vectores fágicos λ
10) Conjunto de clonas λ que incluye todas las secuencias de DNA de una especie determinada

16. Al investigar la bibliografía actual sobre inmunología, tal vez advierta el lector que algunos investigadores realizan experimentos con células mononucleares de sangre periférica (PBMC, del inglés *peripheral blood mononuclear cells*) en lugar de una línea celular o además de ella. La sangre del paciente se somete a varios pasos de aislamiento que eliminan eritrocitos, plaquetas y granulocitos, dejando sólo células mononucleares (linfocitos y monocitos). ¿Cuáles cree que sean las ventajas y desventajas de estos dos sistemas celulares?

17. La pepsina es una proteasa inespecífica activa a pH bajo (medio ácido). Escinde péptidos en el extremo carboxilo terminal de los enlaces disulfuro dentro de las cadenas pesadas, de lo que resulta una extensa degradación del fragmento Fc. En la figura adjunta se muestran los resultados de una tinción con SDS-PAGE de IgG murina intacta (no digerida) y digerida con pepsina.

    a. La papaína es otra proteasa que escinde péptidos corriente arriba del enlace disulfuro (véanse en la fig. 4-7 las actividades de estas proteasas). ¿Cómo luciría el gel si la digestión se realizara con papaína?
    b. ¿Cuál sería el aspecto si al amortiguador de carga se agregara β-mercaptoetanol, un agente reductor que rompe enlaces disulfuro?
    c. Si el gel de (a) se transfiriera por electroforesis a nitrocelulosa y se ensayara con los siguientes anticuerpos, ¿cómo se vería la mancha formada (Western blot)?

        1) mAb anti-idiotipo
        2) Ig antimurina policlonal de conejo



Apéndice I: Antígenos CD

En el cuadro siguiente se presenta información acerca de la naturaleza, distribución y función de los antígenos CD. Dado que muchos antígenos CD se conocen con diversos nombres, se consignan los sinónimos además de la designación CD oficial. La masa se incluye (cuando se conoce) para los antígenos CD que son proteínas, no para los carbohidratos ni los lípidos. Al resumir los patrones de expresión de los antígenos CD, los autores se concentraron en las células del sistema inmunitario (leucocitos). Sin embargo, puesto que muchos de estos antígenos también se expresan en otros tipos de células, se presentan algunos ejemplos de éstas. La descripción de las funciones de cada antígeno CD se enfoca asimismo en las células del sistema inmunitario, con algún ejemplo ocasional de las funciones en otros tipos celulares. La función se registra como "desconocida" si no hay alguna función inmunitaria relevante conocida para el marcador CD.

En las fuentes en línea que se mencionan a continuación se encuentran revisiones detalladas de antígenos CD, incluidos patrones de expresión celular y funciones. Dichas fuentes se actualizan de manera regular con listas completas de referencias:

http://www.vetmed.wsu.edu/tkp/Search.aspx

Esta base de datos amplia y fácil de utilizar es mantenida por el College of Veterinary Medicine de la Washington State University.

http://www.hlda8.org/CD1toCD339.htm

Este sitio web ofrece información sobre las funciones de antígenos CD conocidos y propuestos, y presenta vínculos con otras fuentes de información sobre dichas moléculas. Se trata de un esfuerzo conjunto de numerosos investigadores de todo el mundo, y es actualizado de manera regular a través de una serie de talleres internacionales conocidos cono los Human Leukocyte Differentiation Antigens (HLDA) Workshops.

http://ca.expasy.org/

Esta base de datos fácil de utilizar es patrocinada y mantenida por el Instituto Suizo de Bioinformática, y proporciona información sobre estructura y secuencia de proteínas, además de funciones y distribución celular.

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PROW/

El índice de CD presentado en este sitio web es un listado amplio de patrones de expresión celular y funciones de dichos antígenos, tanto en leucocitos como en otros tipos celulares. Este recurso, que se actualiza con regularidad, es patrocinado por la National Library of Medicine.

http://www.rndsystems.com/mini_reviews.aspx

Esta base de datos de la compañía R&D Systems ofrece revisiones actualizadas y detalladas de antígenos CD específicos y familias de antígenos.

La investigación continua indudablemente identificará más antígenos CD y ayudará a comprender su función y expresión. En los recursos en línea enumerados antes puede consultarse información completa y actualizada sobre cualquier antígeno CD.

Una fuente de información más es PubMed, también de la National Library of Medicine:

http://www.ncbi.nlm.nih.gov/PubMed/medline.html

Este sitio es una base de datos bibliográficos en línea que contiene referencias, muchas con resúmenes informativos, de más de 16 millones de artículos de una colección completa de publicaciones científicas médicas y biológicas. El índice incluye artículos del decenio de 1950 a la fecha, y se agregan nuevas referencias a diario. Una máquina de búsqueda en el sitio permite efectuar búsquedas mediante palabras clave y otras variables, como el nombre del investigador o el año de la publicación. Una búsqueda por palabra clave en la que se utilice el nombre de un antígeno CD particular proporciona una lista de los artículos publicados más recientes respecto a él. Para hacer una búsqueda más completa de un antígeno particular pueden incluirse los sinónimos que se listan en este cuadro como palabras clave alternativas.

Antígeno CD. Peso molecular. Sinónimos y propiedades	**Expresión leucocítica**	**Función**
CD1a, b, c, d, e. 43 a 49 kDa. Estructura similar a MHC clase I.	Células dendríticas, células B, células de Langerhans, algunos timocitos, monocitos, células T activadas y células epiteliales	Presenta antígenos no peptídicos y glucolipídicos para las respuestas de células T
CD2. 45 a 48 kDa. LFA-2, T11, Leu5, Tp50; molécula de adhesión para unión a CD58, receptor de eritrocito de oveja (SRBC).	Células T, timocitos, células NK	Molécula de adhesión participante en la activación de las células T
CD3. γ, 25 a 28 kDa; δ, 20 kDa; ϵ, 20 kDa. T3; compuesto por tres cadenas polipeptídicas: γ, δ y ϵ.	Timocitos, células T, células NKT	Esencial para la transducción de señales del TCR y en la expresión en la superficie celular del TCR

(continúa)

Antígeno CD. Peso molecular. Sinónimos y propiedades	**Expresión leucocítica**	**Función**
CD4. 55 kDa. L3T4, T4, Leu3, Ly4, Ox38.	Células T restringidas a MHC clase II, algunos timocitos, monocitos/macrófagos, granulocitos	Correceptor para la activación de células T restringidas a MHC clase II; marcador de diferenciación tímica para células T; receptor para VIH
CD5. 58 kDa. Leu1, T1, Ly-1, Ox19.	Células T maduras, timocitos tempranos; pequeñas cantidades en un subtipo de células B maduras (células B1a)	Modulación positiva o negativa de TCR y señalización de BCR, según el tipo y la etapa del desarrollo de la célula que lo exhibe
CD6. 105 o 130 kDa. T12, Ox52, Tp120; miembro de la superfamilia de proteínas ricas en cisteína receptoras depuradoras (SRCR) del grupo B.	La mayor parte de las células T periféricas, timocitos, un subgrupo de células B	Molécula de adhesión que une timocitos en desarrollo a células epiteliales tímicas; participa en la interacción de la célula T madura con células presentadoras de antígeno no profesionales
CD7. 40 kDa. gp40, Leu9, Tp41; miembro de la familia de receptores de galectina 1.	Células hematopoyéticas pluripotenciales, células T, timocitos, células NK, células pre-B	Distingue progenitoras linfoides primitivas de células madre pluripotentes; contribuye a regular la producción de citocinas de células T y células NK y la sensibilidad al choque inducido por LPS; posible actividad coestimuladora para células T
CD8. T8, Leu-2, Lty-2; dímero de dos cadenas unido a membrana, heterodímero αβ u homodímero αα.	Células T restringidas a MHC clase I, algunos timocitos, subgrupo de células dendríticas	Correceptor para células T restringidas a MHC clase I
CD9. 24 kDa. MRP-1, p24, DRAP-27.	Plaquetas, células B tempranas, células B activadas, células T activadas, eosinófilos, basófilos	Modulación de adhesión y migración celulares; desencadenamiento de la activación plaquetaria
CD10. 100 kDa. Antígeno común de leucemia linfoblástica aguda (CALLA), EC 3.4.24.11 (neprilisina), encefalinasa, gp100, endopeptidasa neutra (NEP), metaloendopeptidasa.	Precursores de células B, precursores de células T, células estromales de la médula ósea, neutrófilos, monocitos, queratinocitos	Metalopeptidasa unida a membrana responsable de escindir diversos péptidos inflamatorios y vasoactivos
CD11a. 180 kDa. Cadena α de integrina L, cadena α de LFA-1 (molécula 1α relacionada con la función leucocítica); forma LFA-1 mediante la unión con CD18.	Monocitos, macrófagos, granulocitos, linfocitos	Subunidad de LFA-1, glucoproteína de membrana que permite la adhesión entre células por interacción con ICAM-1 (molécula 1 de adhesión intercelular)
CD11b. 165 kDa. C3biR, CR3, Ly40, receptor de iC3b, Ox42; cadena α de la integrina MAC-1, forma MAC-1 por la unión con CD18.	Granulocitos, monocitos, células NK, subgrupo de células T, subgrupo de células B, subgrupo de células B, células dendríticas mieloides	Subunidad de MAC-1, que media las interacciones de neutrófilos y monocitos con el endotelio estimulado, la fagocitosis de partículas cubiertas con iC3b o IgG, la diseminación o la quimiotaxis de leucocitos; molécula de unión a ligando que se une a C3b, ICAM-1 (CD54), ICAM-2 (CD102) y fibrinógeno
CD11c. 145 kDa. Cadena α de integrina X, αxβ2, cadena α de la integrina CR4, antígeno leucocítico de superficie, p150,95; forma CR4 al unirse con CD18.	Monocitos, macrófagos, células NK, granulocitos, subgrupo de células T, subgrupo de células B, células dendríticas	Subunidad del complejo con CD18 que es similar al complejo CD11b/CD18, con el que actúa en forma cooperativa; la principal forma de CD11/CD18 en los macrófagos tisulares
CD11d. 150 kDa. Glucopéptido tipo 1 de cadena α.	Leucocitos de sangre periférica, macrófagos específicos de tejido	Desconocida; tal vez participe en el proceso aterosclerótico y la diferenciación de los macrófagos
CD12w. 90 a 120 kDa.	Monocitos, granulocitos, plaquetas y células NK	Desconocida
CD13. 150 kDa. Aminopeptidasa N (APN), EC 3.4.11.2, gp150, Lap1.	Progenitoras tempranas de granulocitos y monocitos (CFU-GM), granulocitos y monocitos maduros, células estromáticas de médula ósea, osteoclastos, una pequeña cantidad de linfocitos granulares grandes, células T	Metaloproteasa que cataliza la eliminación de residuos N terminales de péptidos
CD14. 53 kDa. Receptor de LPS (LPS-R); proteína glucosilada anclada a GPI, también existe como proteína soluble.	Monocitos, macrófagos, granulocitos (expresión débil), células B, células dendríticas, hepatocitos	Receptor de endotoxina (lipopolisacárido [LPS]), que activa monocitos o neutrófilos para liberar citocinas (TNF) e incrementar las moléculas de adhesión cuando se une con LPS; se enlaza a peptidoglucano en bacterias grampositivas, Hsp60, ceramidas, lipoproteínas modificadas y fosfolípidos aniónicos; se informa que la forma soluble actúa como proteína de fase aguda y podría regular la activación de células T y actuar como mitógeno de células B

Antígeno CD. Peso molecular. Sinónimos y propiedades	**Expresión leucocítica**	**Función**
CD15. 90 kDa. Lewis X, Lex, SSEA-1, 3-FAL, 3-FL, LNFP III (lacto-*N*-neofucopentosa III); poli-*N*-acetil-lactosamina, polímero de carbohidrato de peso molecular indefinido.	Granulocitos, monocitos, macrófagos, células de Langerhans, células de médula ósea maduras del linaje mielomonocítico, débilmente en células T	Se sugiere que es el ligando para las selectinas CD61; podría ser importante para dirigir las interacciones directas carbohidrato-carbohidrato
CD15s. No definido. Sialilo de Lewis X (sLex), Lewis X sialilado (SLE-x); poli-*N*-acetil lactosamina, polímero de carbohidrato de peso molecular indefinido.	Granulocitos, monocitos, macrófagos, células NK, subgrupos de células T	Molécula a la que se une con más fuerza la selectina E, implicada en la adhesión celular entre carbohidratos distintos
CD15u. Indefinido. Forma sulfatada de CD15.	Granulocitos, monocitos, macrófagos	Adhesión carbohidrato-carbohidrato
CD16a, b. 50 a 80 kDa. FCγRIIIA. Glucoproteína anclada a GPI.	Forma transmembranal en el ser humano en células NK, macrófagos y mastocitos; forma expresada anclada a GPI en neutrófilos; en ratones no se ha identificado la forma anclada a GPI de CD16a, y la forma transmembranal se expresa en macrófagos, células NK, neutrófilos, precursores mieloides y la mayoría de los timocitos fetales $CD4^+$-$CD8^+$-TCR tempranos	Subunidad del receptor de Fc de baja afinidad; participa en la fagocitosis de antígeno en complejo con anticuerpo y en la citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpos (ADCC)
CDw17. 115 a 165 kDa. Lactosilceramida (LacCer); antígeno carbohidrato.	Monocitos, granulocitos, basófilos, plaquetas, subgrupo de células B periféricas ($CD19^+$), células dendríticas amigdalinas	Desconocida; por su capacidad de unirse a bacterias tal vez participe en la fagocitosis
Cd18. 95 kDa. Cadena de integrina β2; subunidad β que se combina con las subunidades CD11a, CD11b o CD11c para formar integrinas.	Todos los leucocitos	Adhesión y señalización en el sistema hematopoyético (véanse entradas para CD11a, CD11b y CD11c)
CD19. >120 kDa. B4.	Células dendríticas foliculares, células B desde las células del linaje B reconocibles más tempranas durante el desarrollo hasta las formas blásticas de células B, pero se pierde con la maduración a células plasmáticas	Parte del correceptor de células B con CD21 y CD81; una molécula crucial de transducción de señales que regula el desarrollo, la activación y la diferenciación de las células B
CD20. 33 a 37 kDa. B1, Bp35; superfamilia de proteínas de cuatro pases por membrana; glucoproteína tipo 3 de cuatro pases por membrana.	Células B	El enlace activa vías dependientes de tirosincinasa y podría participar en la proliferación y diferenciación de células B; regula la activación y proliferación de linfocitos B al regular la subunidad del canal de Ca^{2+} transmembranal y el avance en el ciclo celular
CD21. 145 kDa (forma de membrana); 130 kDa (forma soluble). Receptor de C3d, CR2, receptor para virus de Epstein-Barr (EBV-R); glucoproteína tipo 1 monocatenaria.	Células B, células dendríticas foliculares, subgrupo de timocitos inmaduros	Receptor para EBV, C3d, C3dg e iC3b; con CD19 y CD81 forma parte del correceptor de células B, un complejo grande de transducción de señales
CD22. 140 kDa. BL-CAM, Lyb8 en ratones; glucoproteína tipo 1 monocatenaria.	Superficie de células B maduras, citoplasma de células pro-B tardías y pre-B tempranas	Molécula de adhesión; molécula de señalización
CD23. 45 kDa. B6, BLAST-2, FcϵRII, Leu-20; receptor para IgE de baja afinidad; lectina tipo C, glucoproteína tipo 2 homotrimérica.	Células B humanas, monocitos, débilmente en otras células hematopoyéticas	Regulación de la síntesis de IgE; desencadena la liberación de TNF, IL-1, IL-6 y GM-CSF de los monocitos humanos
CD24. 35 a 45 kDa. BA-1, Ly52, antígeno termoestable (HSA) en el ratón.	Linaje celular B, pero se pierde en la etapa de células plasmáticas, granulocitos maduros, timocitos, epitelio normal, monocitos, células de Langerhans, eritrocitos	Molécula de adhesión tipo mucina que se ha demostrado incrementa el potencial metastásico de células tumorales
CD25. 55 kDa. Cadena α del receptor para IL-2, IL-2R, antígeno Tac, p55.	Células B activadas, células T, monocitos y oligodendrocitos, algunos timocitos, macrófagos, células NK, células mieloides y un subgrupo de células dendríticas	Receptor de IL-2 de baja afinidad (IL-2Rα) y marcador de la activación; induce la activación y la proliferación de células T, timocitos, células NK, células B y macrófagos; también participa en la inmunorreacción mediada por células T. Se une a cadenas β y γ para adquirir gran afinidad por IL-2R

(continúa)

Antígeno CD. Peso molecular. Sinónimos y propiedades	Expresión leucocítica	Función
CD26. 110, 120 kDa. EC 3.4.14.5, proteína de unión a adenosindesaminasa (proteína de unión a ADA), dipeptidilpeptidasa IV (exoenzima DPP IV); glucoproteína tipo 2 homodimérica; miembro de la familia de polioligopeptidasas.	Células T maduras o activadas, células B, células NK, macrófagos, células del epitelio tubular proximal renal, epitelio del intestino delgado, canalículos biliares, células que revisten los senos esplénicos, próstata; también se expresa de manera primaria en timocitos maduros de la médula, aumenta en células T de memoria después de la activación	Se sugiere que funciona como proteasa unida a membrana, molécula coestimuladora de células T y molécula de adhesión celular
CD27. 55 kDa. S152, T14; miembro de la superfamilia de receptores de factor de necrosis tumoral.	Timocitos $CD3^+$ maduros, células B y T activadas, células NK, macrófagos, la mayor parte de las células T periféricas, células B de memoria	Mediación de una señal coestimuladora para la activación de células B y T; participa en el desarrollo de células T murinas
CD28. ≈90 kDa (forma homodimérica). T44, Tp44.	Timocitos $CD3^+$ maduros, la mayor parte de las células T periféricas, células plasmáticas	Coestimulación de la proliferación de células T y la producción de citocinas al unirse con CD80 o CD86
CD29. 130 kDa. Cadena β1 de integrina, GP, GPIIa plaquetario, cadena β de VLA.	Leucocitos, débilmente en granulocitos	Subunidad β de integrina VLA-1, actúa como receptor de fibronectina y participa en la adhesión celular y el reconocimiento en una variedad de procesos, como embriogénesis, hemostasis, reparación tisular, inmunorreacción, difusión metastásica de células tumorales, y desarrollo; esencial para la diferenciación de células madre hematopoyéticas con avance del tumor y metástasis/invasión
CD30. 105 a 120 kDa. Antígeno Ber-H2, antígeno Ki-1; miembro de la superfamilia de receptores de factor de necrosis tumoral.	Células T activadas, células B activadas, células NK activadas, monocitos	Coestimula la proliferación de células T e incrementa la expresión de moléculas de adhesión y la liberación de citocina; podría atenuar la proliferación de linfocitos T autorreactivos
CD31. 130 a 140 kDa. CPiia, endocam, molécula de adhesión celular plaquetaria (PECAM-1); miembro de la superfamilia de genes de inmunoglobulina (IgSF).	Células endoteliales, plaquetas, monocitos, neutrófilos, células NK, subgrupos de células T	Principalmente una molécula de adhesión sin actividad enzimática conocida; participa en la migración celular transendotelial
CD32. 40 kDa. FCRII, FcγRII; Ly-17; múltiples isoformas.	Monocitos, macrófagos, células de Langerhans, neutrófilos (isoformas A y C), células B (isoforma B) y plaquetas así como células endoteliales de la placenta. Todas las isoformas se expresan en monocitos	Receptor para la porción Fc de las moléculas de IgG en complejos antígeno-anticuerpo. Regula la actividad de las células B y tiene un papel importante en la lesión tisular inducida por inmunocomplejos; al parecer tiene un papel inhibidor importante que previene el desarrollo de enfermedad autoinmunitaria; puede inducir fagocitosis mediada por IgG y explosión oxidativa en neutrófilos y monocitos
CD33. 67 kDa. gp67, p67, Siglec-3; glucoproteína tipo 1 monocatenaria.	Progenitoras mieloides, monocitos y macrófagos, precursores de granulocitos con expresión decreciente tras la maduración y diferenciación, de lo que resulta un bajo nivel de expresión en granulocitos maduros	Sirve como marcador para distinguir entre leucemias mieloides y linfoides. Molécula de citoadhesión dependiente de ácido siálico; es una sialoadhesina; inhibe la proliferación de células mieloides normales y leucémicas y también podría mediar la adhesión célula a célula; asimismo participa en la unión a carbohidrato y la actividad de lectina
CD34. 40 kDa (basado en la secuencia de aminoácidos). gp105-120, mucosialina; glucoproteína tipo 1.	Células linfohematopoyéticas tempranas y células progenitoras, células endoteliales de pequeños vasos, fibroblastos embrionarios, algunas células del tejido nervioso fetal y adulto	Molécula de adhesión célula a célula; también interviene para inhibir la diferenciación hematopoyética
CD35. Muchas formas: 160, 190, 220, 250, 165, 195, 225, 255 kDa. C3bR, C4bR, receptor de complemento tipo uno (CR1), receptor de adhesión inmunitaria; miembro de la superfamilia de receptores de componentes del complemento (CCRSF), glucoproteína tipo 1 monocatenaria.	Eritrocitos, neutrófilos, monocitos, eosinófilos, linfocitos B y 10 a 15% de linfocitos T	Receptor para partículas cubiertas con C4b/C3b, media su adhesión y fagocitosis; facilitador de la separación de C3b y C4b, lo que limita la activación del complemento

Antígeno CD. Peso molecular. Sinónimos y propiedades	**Expresión leucocítica**	**Función**
CD36. 88 a 113 kDa (forma plaquetaria). GPIIIb, GPIV, antígeno OKM5, PASIV; miembro de la superfamilia de receptores depuradores; glucoproteína monocatenaria tipo 3 de dos pases por membrana.	Plaquetas, monocitos y macrófagos maduros, células endoteliales; en ratones, se expresa en células B	Glucoproteína multifuncional que actúa como molécula de adhesión en la adhesión y agregación plaquetarias, y en la interacción plaquetas-monocitos o plaquetas-células tumorales; molécula para reconocimiento de neutrófilos apoptósicos; participa en la eliminación fagocítica de células apoptósicas; receptor depurador para LDL oxidada
CD37. 40 a 52 kDa. gp52-50. Miembro de la superfamilia de proteínas de cuatro pases por membrana (TM4SF); glucoproteína tipo 3 de cuatro pases por membrana.	Células B; niveles bajos en células T, neutrófilos, granulocitos y monocitos	El CD37 expresado por células B se une de manera no covalente a MHC clase II, CD19, CD21 y las moléculas TM4SF CD53, CD81 y CD82; interviene en la vía o las vías de transducción de señales que regulan desarrollo, activación, proliferación y motilidad celulares y quizá participe también en las interacciones célula T-célula B
CD38. 45 kDa (en leucocitos), 39 kDa (forma soluble). T10, ribosilciclasa de ADP, hidrolasa de ADP-ribosa cíclica, glucoproteína monocatenaria tipo 2.	Niveles variables en la mayoría de las células hematopoyéticas, aunque más intensa durante la diferenciación y la activación tempranas y en algunas células no hematopoyéticas; altos niveles de expresión en células B, células T activadas y células plasmáticas	Glucohidrolasa de NAD; actúa en la adhesión celular; regulador positivo y negativo de la activación y la proliferación celulares, según el entorno celular; transducción de señales y señalización a través de calcio; también actúa como ectoenzima que participa en el metabolismo de nucleótidos
CD39. 78 kDa. Potencialmente una proteína tipo 3 de dos pases por membrana.	Zona del manto y linfocitos activados paracorticales, macrófagos, células dendríticas y células de Langerhans; ausente en centros germinales	Podría mediar la adhesión homotípica de células B y proteger linfocitos activados a través de la hidrólisis de ATP extracelular
CD40. 48 kDa (monómero), 85 kDa (dímero). Bp50; miembro de la superfamilia de receptores de TNF (TNFRSF), glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Todos los linajes de células B maduras excepto células plasmáticas, macrófagos, células dendríticas foliculares, monocitos activados, células endoteliales, fibroblastos, células dendríticas interdigitantes, queratinocitos, progenitoras hematopoyéticas CD34$^+$	Se une a CD154. Interviene en proliferación, diferenciación y cambio de isotipo de células B; señal de rescate de apoptosis para células B de centros germinales; estimulación de la producción de citocinas en macrófagos y células dendríticas; regulación a la alza de las moléculas de adhesión en células dendríticas. Papel decisivo en la regulación de la inmunidad mediada por células así como en la mediada por anticuerpos
CD41. Dímero αβ: α, 125 kDa; β, 122 kDa. Cadena de integrina αIIb de glucoproteína IIb (GP IIb); forma el receptor plaquetario de fibrinógeno cuando se une con GP IIIa; glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Plaquetas, megacariocitos	Subunidad del receptor plaquetario de fibrinógeno, que media la agregación plaquetaria; tiene un papel central en activación plaquetaria, cohesión, coagulación, agregación y fijación de plaquetas; tal vez también sea receptor para factor de von Willebrand, fibronectina y trombospondina; se ha demostrado asimismo que participa en la señalización mediada por superficie celular
CD42a, b, c, d. a, 23 kDa; b, 145 kDa; c, 24 kDa; d, 82 kDa. a, GPIX; b, GPIb-α; c, GPIb-β; d, GPV. Glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Plaquetas, megacariocitos; CD42c también se expresa en endotelio, encéfalo y tejido cardíaco	El complejo de CD42a-d sirve como receptor de factor de von Willebrand y trombina. Adhesión de plaquetas al endotelio; amplificación de la respuesta plaquetaria a la trombina
CD43. 95 a 115 kDa en células T vírgenes; 115 a 135 kDa en células T activadas y neutrófilos. gpL115, sialoglucoproteína leucocítica, leucosialina, sialoforina, Ly-48.	Todos los leucocitos, excepto la mayor parte de las células B en reposo	Posible molécula antiadhesiva (“barrera”) que media la repulsión entre leucocitos y otras células
CD44. 85 kDa. ECMR III, H-CAM, HUTCH-1, Hermes, Lu (relacionada con In), Pgp-1, gp85; múltiples isoformas.	Superficie de la mayor parte de los tipos celulares; CD44H es la principal isoforma expresada en linfocitos, y la forma soluble detectable en líquidos corporales	Receptor reciclable que se une a hialadherina (HA) y otras macromoléculas tisulares; se ha demostrado que participa en la transducción de señales de activación hacia la célula y funciona como una molécula de adhesión que media la fijación de leucocitos y el direccionamiento hacia órganos linfoides periféricos y sitios de inflamación

(continúa)

Antígeno CD. Peso molecular. Sinónimos y propiedades	**Expresión leucocítica**	**Función**
CD44R. 85 a 200 kDa en células epiteliales; 85 a 250 kDa en linfocitos. CD44v, CD44v9; grupo heterogéneo de isoformas variantes de CD44 designadas por los exones variantes que incluyen (v2-v10 en seres humanos).	Células epiteliales y monocitos (de manera constitutiva), leucocitos activados	Aún no se aclara la actividad de muchas isoformas de CD44R; podrían intervenir (en particular CD44v6) en la fijación leucocítica a las células endoteliales y su rodamiento sobre éstas, y en el direccionamiento hacia órganos periféricos y sitios de inflamación
CD45. 210 a 220 kDa en células T vírgenes o en reposo y células NK; 180 a 200 kDa en células T activadas o de memoria, monocitos, granulocitos y células dendríticas; 180 kDa en células B. Antígeno leucocítico común (LCA), T200, EC 3.1.3.4; muchas isoformas diferentes con pesos moleculares distintos, p. ej., B220, CD45R, CD45RA, CD45RB, CD45RC, CD45RO. (Se generan diversas isoformas de CD45 por empalme anternativo de tres exones que pueden insertarse inmediatamente después de una secuencia N terminal de 8 aa presente en todas las isoformas.)	Todas las células hematopoyéticas excepto eritrocitos; especialmente elevado en linfocitos (10% de su área superficial es CD45); diferentes isoformas características de subgrupos diferenciados de diversas células hematopoyéticas	Regula una variedad de procesos celulares, incluidos proliferación, diferenciación, ciclo mitósico y transformación oncogénica; papel esencial en la activación mediada por receptor-antígeno de células T y B; posible participación en la activación mediada por receptor en otros leucocitos
CD46. 52 a 58, 35 a 40 kDa. Proteína cofactor de membrana (MCP); miembro de la familia de proteínas reguladoras de la activación del complemento (RCA).	Linfocitos en sangre periférica (PBL), tejidos no hematopoyéticos como glándulas salivales y conductos renales; ampliamente expresado en fibroblastos y leucocitos	Se une a los componentes del complemento C3b y Cb4, permitiendo la degradación por factor 1, y es un receptor para el virus del sarampión y para *Streptococcus pyogenes*; barrera protectora contra la activación inadecuada del complemento y su depósito en membranas plasmáticas; no se han atribuido funciones bien definidas a isoformas específicas de tejido ni al nivel de expresión variable; la formación de enlaces cruzados reduce la producción de IL-12 por mecanismos desconocidos
CD47. 45 a 60 kDa en eritrocitos, 47 a 55 kDa en plaquetas. Proteína relacionada con Rh, gp42, proteína relacionada con integrina (IAP), neurofilina, antígeno de carcinoma ovárico 3 (OA3); miembro de la superfamilia de genes de inmunoglobulina (IgSE).	La mayor parte de las células; parte del complejo Rh en eritrocitos y no se expresa en eritrocitos Rh-nulos	Se une de manera no covalente con las integrinas CD61 β3; actúa como molécula de adhesión y receptor de trombospondina; interviene en las interacciones quimiotáctica y adhesiva de los leucocitos con células endoteliales por un mecanismo de acción aún no aclarado
CD47R. 120 kDa. Formalmente conocido como CDw149. MEM-133, IAP, MER6, OA3, proteína relacionada con Rh, gp42, neurofilina.	Linfocitos en sangre periférica, monocitos; débilmente en neutrófilos, eosinófilos, plaquetas	Puede interactuar con integrinas y contribuir al aumento del calcio intracelular durante la adhesión celular
CD48. 45 kDa. BCM1 en el ratón, Blast-1, Hu Lym3, OX-45 en la rata, Sgp-60.	Se expresa ampliamente en células hematopoyéticas con la excepción de granulocitos y algunos eosinófilos, plaquetas y eritrocitos	Identificado recientemente como ligando del receptor inhibidor de células NK CD244 (2B4); molécula de adhesión a través de su receptor, CD2; podría participar en reconocimiento, adhesión y coestimulación de células T αβ y como molécula accesoria, según lo predice el reconocimiento de antígeno por la célula T
CD49a. 200 kDa. Cadena α-1 de integrina, cadena α de antígeno 1 muy tardío (cadena α de VLA-1).	Células T activadas, monocitos, células neuronales, músculo liso, células NK activadas por IL-2	Integrina que se relaciona con CD29, se une a colágena y laminina 1
CD49b. 160 kDa. Cadena α-2 de integrina, GPIa, cadena α de VLA-2.	Células T, células NK, células B, monocitos, plaquetas, megacariocitos; células neuronales, epiteliales y endoteliales; osteoclastos	Integrina que se relaciona con CD29, se une a colágena y laminina 1; interviene en el mantenimiento de la integridad de la monocapa endotelial junto con CD49e. Participa en la adhesión y la señalización mediada por superficie celular, y tiene un papel en la coagulación sanguínea y la angiogénesis
CD49c. 150 kDa. Cadena α-3 de integrina, cadena α de VLA-3.	Niveles bajos en monocitos, linfocitos B y T	Integrina que se relaciona con CD29 y se une a diversos ligandos, como colágena, laminina 5, fibronectina, entacina, invasina; la afinidad de unión por cada ligando depende del tipo celular en que se expresa, las concentraciones de cationes divalentes, y la presencia de otros heterodímeros de integrina en la célula; tal vez intervenga en la adhesión célula a célula y célula a matriz

Antígeno CD. Peso molecular. Sinónimos y propiedades	**Expresión leucocítica**	**Función**
CD49d. 145 kDa. Cadena α-4 de integrina, cadena α de VLA-4.	Muchos tipos celulares, inclusive células T, células B, monocitos, eosinófilos, basófilos, mastocitos, timocitos, células NK, células dendríticas, mieloblastos embrionarios y células mielomonocíticas, algunas células de melanoma, células de Kupffer, miocitos, células precursoras eritroblásticas y reticulocitos falciformes; no en eritrocitos, plaquetas o neutrófilos normales	Molécula de adhesión celular para unión a los ligandos de superficie celular VCAM-1 (α4β1 y α4β7) y MAdCAM-1 (α4β7) y unión a las proteínas de la matriz extracelular fibronectinas (α4β1 y α4β7) y trombospondina (α4β1), y para migración y direccionamiento de linfocitos; molécula coestimuladora para la activación de células T
CD49e. 155 kDa. Cadena α-5 de integrina, cadena α FNR, cadena α de VLA-5.	Muchos tipos celulares, inclusive células T, células B muy tempranas y activadas, timocitos, monocitos, plaquetas	Integrina que se relaciona con CD29 y media la unión a fibronectina, con lo que envía una señal coestimuladora a las células T; se cree que es importante para el mantenimiento de la integridad de la monocapa endotelial junto con CD49b; interviene en adhesión, regulación de la supervivencia celular, y apoptosis; también participa en la migración de monocitos mediada por VLA a los tejidos extracelulares
CD49f. 125 kDa. Cadena α-6 de integrina, gpI plaquetaria, cadena α de VLA-6.	Células T, monocitos, plaquetas, megacariocitos, trofoblastos	Integrina que se relaciona con CD29 y CD104, interviene en la adhesión y la migración celulares, la embriogénesis y la señalización mediada por superficie celular; se une con el receptor de laminina en plaquetas, monocitos y células T; aporta una señal coestimuladora a las células T para su activación y proliferación
CD50. 115 a 135 kDa (neutrófilos). Molécula de adhesión intercelular 3, ICAM-3.	Leucocitos de todos los linajes; células de Langerhans epidérmicas y células endoteliales; se expresa de manera constitutiva en células presentadoras de antígeno en reposo, incluidas células dendríticas; se libera de linfocitos y neutrófilos activados y es detectable en la sangre como proteína soluble	Se ha demostrado que se une a CD209 (DC-SIGN) como receptor en células dendríticas y, al igual que CD54 y CD102, es un ligando para LF-1 CD11a/CD18 y participa en la adhesión dependiente de integrina β; actúa como molécula coestimuladora en la inmunorreacción y parece ser importante en la interacción inicial entre células T y dendríticas, en la que activa las primeras; regula la morfología leucocítica; promueve la redistribución implicada en la quimiotaxis y el reclutamiento celulares
CD51. 125 kDa. Cadena α de VNR, cadena α-V de integrina, receptor de vitronectina; forma α-V de integrina por unión a CD61; se sabe que forma heterodímeros con las subunidades de integrina β1 CD29, β3 CD61, β5, β6, y β8 en diversos tejidos	Plaquetas, megacariocitos, células endoteliales, determinados leucocitos activados, células NK, macrófagos y neutrófilos; osteoclastos y células de músculo liso	Subunidad de integrina α-V, que se une con vitronectina, factor de von Willebrand, fibronectina, trombospondina y tal vez células apoptósicas; se ha demostrado que media la unión de plaquetas a vitronectina inmovilizada sin activación previa, y también que interactúa con CD47; inicia la resorción ósea al mediar la adhesión de osteoclastos a osteopontina, y tal vez intervenga en la angiogénesis
CD52. 25 a 29 kDa. CAMPATH-1, HE5; glucoproteína monocatenaria anclada a GPI.	Alto nivel de expresión en timocitos, linfocitos, monocitos, macrófagos, células epiteliales del aparato reproductor masculino	Desconocida
CD53. 32 a 42 kDa. MRC OX44; miembro de la superfamilia de proteínas de cuatro pases por membrana (TM4SF).	Células T y B, monocitos, macrófagos, granulocitos, células dendríticas, osteoblastos y osteoclastos	Media los procesos de la transducción de señales implicados en la regulación de desarrollo, activación, proliferación y mortalidad celulares; contribuye a la transducción de señales generadas por C2 en las células T y B, y podría participar en la regulación del crecimiento; los enlaces cruzados promueven la activación de células B y macrófagos en el ser humano

(continúa)

Antígeno CD. Peso molecular. Sinónimos y propiedades	**Expresión leucocítica**	**Función**
CD54. 90, 75 a 115 kDa. Molécula de adhesión intercelular 1 (ICAM-1).	Células endoteliales activadas, células T activadas, células B activadas, monocitos, células endoteliales; la forma soluble puede detectarse en la sangre	Ligando para CD11a/CD18 o CD11b/CD18; se ha demostrado que se une a fibrinógeno y hialuronano; receptor para rinovirus y eritrocitos infectados con parásitos palúdicos; podría intervenir en el desarrollo y en la promoción de la adhesión; contribuye a la activación de células T específica de antígeno por células presentadoras de antígeno, tal vez al fomentar interacciones entre células T y células presentadoras de antígeno; colabora en la extravasación de leucocitos desde los vasos sanguíneos, en particular en zonas de inflamación; además, la forma soluble podría inhibir la activación de CTL o células NK por células malignas
CD55. 80 kDa (linfocitos), 55 kDa (eritrocitos). Factor acelerador de la degradación (DAF); glucoproteína anclada a GPI monocatenaria y variante soluble secretada, miembro de la familia de proteínas reguladoras de la activación del complemento (RCA).	La mayor parte de las células; también hay una forma soluble en plasma y líquidos corporales	Interactúa con componentes del complemento, CD97, y una proteína de siete dominios transmembranales que también contiene tres dominios EGF; barrera protectora contra la activación inadecuada del complemento y el depósito en las membranas plasmáticas; limita la formación y la vida media de las convertasas de C3; podría ser importante para los mecanismos de muerte de las células NK; también sirve como receptor de ecovirus y virus Coxsackie B
CD56. 175 a 220 kDa. Leu-19, NKH1, molécula de adhesión celular neural (NCAM); glucoproteína monocatenaria tipo 1 con múltiples isoformas; la isoforma predominante en células NK y T es la glucoproteína anclada transmembranal de 140 kDa.	Células NK humanas, un subgrupo de células T CD4$^+$ y CD8$^+$; también cerebelo y corteza cerebral y en uniones neuromusculares	No se le conoce una función inmunitaria clara, aunque podría intervenir en el crecimiento y la diseminación tumorales; regula las interacciones entre neuronas y entre neuronas y músculo
CD57. 110 kDa.HNK1, Leu-7; antígeno carbohidrato (oligosacárido), componente de muchas glucoproteínas.	Células NK; subgrupos de células T, células B	Participa en la adhesión célula a célula
CD58. 55 a 70 kDa. Antígeno 3 relacionado con la función linfocítica (LFA-3); glucoproteína monocatenaria tipo 1, el empalme alterno produce dos formas, una forma anclada transmembranal y una forma anclada a GPI.	Muchos tipos celulares hematopoyéticos y no hematopoyéticos; especialmente alto en células T de memoria y células dendríticas	Adhesión entre células T asesinas y células blanco, células presentadoras de antígeno y células T, o timocitos y células epiteliales tímicas; se expresa en células presentadoras de antígeno y fomenta el reconocimiento de antígeno de células T a través de la unión a CD2, el único ligando conocido para CD58
CD59. 18 a 25 kDa. IF-5Ag, H19, HRF20, MACIF, MIRL, protectina P-18. Glucoproteína monocatenaria, miembro de la superfamilia de Ly-6.	La mayor parte de los tipos celulares hematopoyéticos y no hematopoyéticos	Se une a los componentes del complemento C8 y C9; podría unirse a CD2. Funciona como inhibidor del ensamblaje del complejo de ataque a membrana (MAC), por lo que protege las células de la lisis mediada por complemento; tiene función señalizadora (como molécula anclada a GPI) en la activación de células T; posible papel en la adhesión celular
CD60a. 115 a 125 kDa (PBMC). Modificación de carbohidrato presente en el gangliósido GD3; antes conocido como CDw60.	Subgrupo de células T, plaquetas, epitelio del timo, queratinocitos activados, fibroblastos sinoviales, glomérulos, células de músculo liso, astrocitos	Interviene en la regulación de la apoptosis e induce la transición de la permeabilidad mitocondrial durante la apoptosis; promueve la ayuda de las células B para la secreción de altas concentraciones de IL-4 por las células T, y la secreción misma
CD60b. 9-O-acetil-disialosil-gangliósido D3; carbohidrato.	Subgrupos de células T, células B activadas, células neuroectodérmicas en el epitelio del timo y en la piel	Posible mitógeno para las células sinoviales
CD60c. 7-O-acetil-GD3 (grupos disialosilo 7-O-acetilados); carbohidrato.	Células T	Se piensa que es un receptor activador para células T
CD61. 110 kDa. CD61A, GPIIb/GPIIIa, cadena $\beta 3$ de integrina; glucoproteína tipo 1 de cadena β.	Plaquetas, megacariocitos, macrófagos, monocitos, mastocitos, osteoclastos, células endoteliales, fibroblastos	Subunidad de la integrina, se relaciona con CD41 (Gp11b/11a) o CD51 (receptor de vitronectina); participa en la adhesión celular, la señalización mediada por superficie celular y la agregación plaquetaria

Antígeno CD. Peso molecular. Sinónimos y propiedades	Expresión leucocítica	Función
CD62E. 97 a 115 kDa. Selectina E, ELAM-1, LECAM-2; lectina tipo C; glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Endotelio con activación aguda, lesiones inflamatorias crónicas de la piel y la membrana sinovial	Molécula de adhesión que media el rodamiento leucocítico sobre el endotelio activado en sitios inflamados; también podría participar en la adhesión de células tumorales durante las metástasis hematógenas, y en la angiogénesis
CD62L. 74 kDa (linfocitos), 95 kDa (neutrófilos). Selectina L, LAM-1, LECAM-1, Leu-8, MEL-14, TQ-1; lectina tipo C, glucoproteína monocatenaria tipo 1.	La mayor parte de las células B periféricas, células T vírgenes, monocitos, granulocitos, subgrupos de células NK y células T de memoria, linfocitos de la médula ósea, células mieloides, timocitos; forma soluble detectable en sangre	Molécula de adhesión que media el direccionamiento de los linfocitos hacia vénulas de endotelio alto del tejido linfoide periférico y el rodamiento leucocítico sobre el endotelio activado en sitios de inflamación
CD62P. 140 kDa. Selectina P, proteína 140 granular de membrana (GMP-140), proteína granular de membrana externa dependiente de la activación plaquetaria (PADGEM); lectina tipo C, glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Endotelio, plaquetas, megacariocitos	Interacción con PSGL-1 para mediar la fijación y el rodamiento de los leucocitos sobre la superficie de las células endoteliales activadas, el primer paso en la extravasación y la migración de los leucocitos hacia los sitios de inflamación; podría contribuir a la destrucción de tejidos relacionada con inflamación, a la aterogénesis y a la trombosis
CD63. 40 a 60 kDa. LIMP, MLA1, PTLGP40, gp55, glucoproteína 3 relacionada con membrana lisosómica de granulofisina (LAMP-3), antígeno relacionado con melanoma (ME491), antígeno neuroglandular (NGA); glucoproteína de membrana relacionada con lisosomas, miembro de la subfamilia 1 de la superfamilia de cuatro pases por membrana (subfamilia 1 de TM4SF).	Plaquetas, neutrófilos desgranulados, monocitos, macrófagos	Media los procesos de transducción de señales que intervienen en la regulación del desarrollo, la activación, la proliferación y la motilidad celulares; podría funcionar como proteína adaptadora transmembranal, para enlazar otras proteínas transmembranales y de señalización
CD64. 72 kDa. FcγRI, FCRI; glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Monocitos, macrófagos, células dendríticas sanguíneas y de centros germinales, PMN activados por IFN-γ o G-CSF, células tempranas del linaje mieloide	Fagocitosis: endocitosis de complejos antígeno-IgG mediada por receptor; captura de antígeno para presentación a células T; citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos; mediador de la liberación de citocinas e intermediarios reactivos de oxígeno
CD65. Dodecasacárido de ceramida, VIM-2; glucolípido.	Restringido a células mieloides; con expresión en la mayoría de los granulocitos y una proporción de células monocíticas	Desconocida
CD65s. CD65 sialilado, VIM2; carbohidrato.	Granulocitos, monocitos	Posible participación en la fagocitosis y la entrada de Ca^{2+}
CD66a. 160 a 180 kDa. NCA-160, glucoproteína biliar (BGP); glucoproteína monocatenaria tipo 1, miembro de la familia de antígeno carcinoembrionario (CEA), múltiples variantes de empalme.	Granulocitos, células epiteliales; posiblemente en un subgrupo de macrófagos tisulares, células T y una subpoblación de células NK activadas, una variedad de epitelios y algunos endotelios	Media la adhesión célula a célula por interacciones homotípicas, heterotípicas o ambas con otras moléculas CD66; molécula de adhesión; receptor para *Neisseria gonorrhoeae* y *N. meningitidis*; podría desencadenar la activación de neutrófilos; también podría contribuir a las interacciones de granulocitos activados entre sí o con endotelio o epitelio; asimismo se piensa que tiene actividad supresora tumoral
CD66b. 95 a 100 kDa. CD67, CGM6, NCA-95; glucoproteína monocatenaria anclada a GPI, miembro de la familia de antígeno carcinoembrionario (CEA).	Granulocitos, células hematopoyéticas del linaje mieloide; forma soluble en el plasma	Similar a CD66a, receptor para *Neisseria gonorrhoeae* y *N. meningitidis*; molécula de adhesión; desencadena la activación de neutrófilos; fomenta la actividad de explosión respiratoria de los neutrófilos, y también podría regular la actividad de adhesión de D11/CD18 en los neutrófilos; es incierta la función de la forma soluble
CD66c. 90 kDa. NCA, NCA-50/90; glucoproteína monocatenaria anclada a GPI, miembro de la familia de antígeno carcinoembrionario (CEA).	Granulocitos, células epiteliales, posiblemente en un subgrupo de macrófagos tisulares, células hematopoyéticas del linaje mieloide; forma soluble en plasma	Similar a CD166a y CD66b; receptor para *Neisseria gonorrhoeae* y *N. meningitidis*; molécula de adhesión, desencadena la activación de neutrófilos; también podría regular la actividad de adhesión de D11/CD18 en los neutrófilos, aunque no existen pruebas funcionales directas

(continúa)

Antígeno CD. Peso molecular. Sinónimos y propiedades	**Expresión leucocítica**	**Función**
CD66d. 35 kDa. CGM1; glucoproteína monocatenaria anclada a GPI, miembro de la familia de antígeno carcinoembrionario (CEA).	Granulocitos, células hematopoyéticas del linaje mieloide, células epiteliales	Similar a CD66a-c; receptor para *Neisseria gonorrhoeae* y *N. meningitidis*; regula la actividad de adhesión de CD11/CD18 en neutrófilos
CD66e. 180 a 200 kDa; glucoproteína monocatenaria anclada a GPI, miembro de la familia de antígeno carcinoembrionario (CEA).	Células epiteliales, se detecta en suero	La interacción de CD66e con células de Kupffer estimula la liberación de diversas citocinas y podría alterar la proliferación de células tumorales en el hígado; posible molécula de adhesión; también es receptor para *N. gonorrhoeae*; podría participar en el proceso de metástasis de células cancerosas
CD66f. 54 a 72 kDa. Glucoproteína b1 específica del embarazo, SP-1, glucoproteína específica del embarazo (PSG).	Hígado fetal; se produce en la placenta y se libera	No está clara; posible papel en la regulación inmunitaria y protección del feto ante el sistema inmunitario de la madre; necesario para el embarazo exitoso, dado que las bajas concentraciones en la sangre materna predicen aborto espontáneo
CD68. 110 kDa. gp110, macrosialina; glucoproteína monocatenaria tipo 1, miembro de la superfamilia de receptores depuradores.	Monocitos, macrófagos, células dendríticas, neutrófilos, basófilos, mastocitos, células progenitoras mieloides, subgrupo de células progenitoras hematopoyéticas CD34$^+$, células T activadas, algunas células B de sangre periférica; forma soluble en sangre y orina	Desconocida
CD69. 60 kDa. Molécula inductora de activación (AIM), EA 1, MRL3, gp34/28, activación muy temprana (VEA); lectina tipo C del grupo V, glucoproteína tipo 2 homodimérica unida por disulfuro.	Leucocitos activados, inclusive células T, timocitos, células B, células NK, neutrófilos, eosinófilos y células de Langerhans; subgrupo de timocitos maduros, células B del manto de centros germinales, algunas células T CD4$^+$ de centros germinales	Participa en los sucesos iniciales de la activación de linfocitos, monocitos y plaquetas: promueve la entrada de Ca^{2+}, la síntesis de citocinas y sus receptores, la inducción de la expresión de protooncogenes c-*myc* y c-*fos;* interviene en la promoción de la lisis mediada por células NK activadas
CD70. 75, 95, 170 kDa. Ligando de CD27, antígeno Ki-24; glucoproteína tipo 2 trimérica, miembro de la superfamilia de TNF.	Células T y B activadas y células NK estimuladas	Ligando para CD27; posible participación en la coestimulación de las células B y T, y podría incrementar la generación de células T citotóxicas y la producción de citocinas
CD71. 190 kDa. T9, receptor de transferrina; glucoproteína tipo 2 homodimérica unida por disulfuro.	Todas las células en proliferación	Captación de hierro: se une a ferrotransferrina a pH neutro e interioriza el complejo en el compartimiento endosómico ácido, donde el hierro se libera
CD72. 39 a 43 kDa. Ly-19.2, Ly-32.2, Lyb-2; lectina tipo C, glucoproteína tipo 2 homodimérica unida por disulfuro.	Células B (excepto células plasmáticas), algunas células dendríticas, y puede expresarse en macrófagos tisulares	Podría participar en la regulación del umbral de señal en células B; contiene un motivo de tirosina activador y posiblemente activa una variedad de vías de señalización a través del receptor de célula B; capaz de inducir la expresión de MHC clase II y la proliferación de células B
CD73. 69, 70, 72 kDa. Ecto-5′, nucleotidasa; glucoproteína anclada por GPI monocatenaria.	Subpoblaciones de células T (la expresión se limita al subgrupo CD28$^+$) y células B (alrededor de 75% de las células B de sangre periférica en el adulto), con expresión creciente durante el desarrollo; células dendríticas foliculares, células epiteliales, células endoteliales	Posiblemente regula la disponibilidad de adenosina para su interacción con el receptor de adenosina en la superficie celular convirtiendo AMP en adenosina; capaz de mediar señales coestimuladoras para la activación de células T; podría contribuir a mediar la interacción entre células B y células dendríticas foliculares
CD74. 33, 35, 41 kDa. Carabina específica de clase II, Ii, cadena invariante; homotrímeros, glucoproteína monocatenaria tipo 2.	En mayor medida intracelular en células que expresan MHC clase II, específicamente células B, células T activadas, macrófagos, células endoteliales y epiteliales activadas	Clasificación intracelular de moléculas MHC clase II; es incierta su función en el ser humano
CDw75. Formalmente conocido como CDw75. Antígeno carbohidrato.	Células B, subpoblación de células T en sangre periférica, eritrocitos, una amplia gama de células epiteliales	Adhesión celular; ligando para CD22
CDw75s. Formalmente conocido como CDw76. Antígeno carbohidrato.	Células B sIg$^+$ maduras, células B de la zona del manto de folículos linfoides secundarios, subpoblación de células T, leucemias del linaje de células B maduras, subgrupos de células endoteliales y epiteliales, posiblemente expresión débil en eritrocitos	Se considera un componente de unión para el antígeno de activación específico de células B CD22; se desconoce su función exacta

Antígeno CD. Peso molecular. Sinónimos y propiedades	**Expresión leucocítica**	**Función**
CD77. Antígeno de grupo sanguíneo Pk, antígeno de linfoma de Burkitt (BLA), trihexósido de ceramida (CTH), globotriasilceramida (Gb3); antígeno esfingolípido, proteína de membrana tipo 2.	Células B de centros germinales	Molécula fundamental de la superficie celular, capaz de mediar una señal apoptósica; su unión al receptor de interferón tipo 1 o al correceptor de VIH CXCR4 (CD184) podría ser esencial para su actividad; receptor para lectinas en las fimbrias de una cepa de *E. coli*; podría participar en el proceso de selección dentro de los centros germinales
CD79a. 33 a 45 kDa. Ig-α, MB1; glucopéptido tipo 1, heterodímero unido por disulfuro a CD79b.	Células B	Componente del receptor para antígeno de célula B análogo a CD3; necesario para la expresión en la superficie celular y la transducción de señales
CD79b. 37 kDa. B29, Ig-β; glucopéptido tipo 1, heterodímero unido por disulfuro a CD79a.	Células B	Igual que CD79a
CD80. 60 kDa. B7, B7.1, BB1; Ly-53; glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Células B y T activadas, macrófagos, bajos niveles en monocitos de sangre periférica en reposo y células dendríticas	Se une a CD28 y CD152; coestimulación de la activación de células T con CD86 cuando está unido a CD28; inhibe la activación de células T cuando estás unido a CD152
CD81. 26 kDa. Blanco para antígeno antiproliferativo 1 (TAPA-1). Glucoproteína monocatenaria tipo 3 de cuatro pases por membrana, miembro de la superfamilia de cuatro pases por membrana (TM4SF).	Expresión amplia en células hematopoyéticas; se expresa en células endoteliales y epiteliales; ausente en eritrocitos, plaquetas y neutrófilos	Miembro del complejo de transducción de señales CD19/CD21/Leu-13; media los sucesos de transducción de señales implicados en la regulación del desarrollo, la proliferación y la motilidad de las células B; se une a la glucoproteína E2 del virus de la hepatitis C
CD82. 45 a 90 kDa. 4F9, C33, IA4, KAI1, R2; glucoproteína monocatenaria tipo 3 de cuatro pases por membrana, miembro de la superfamilia de proteínas de cuatro pases por membrana (TM4SF).	Células hematopoyéticas activadas y diferenciadas, células B y T, células NK monocitos, granulocitos, plaquetas, células epiteliales	Transducción de señales: puede inducir la diseminación de células T y la formación de seudópodos, modula la proliferación de células T y proporciona señales coestimuladoras para la producción de citocina; posible papel en la activación de monocitos
CD83. 43 kDa. HB15; glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Células dendríticas, células B, células de Langerhans	Podría participar en la presentación de antígeno o en la activación de linfocitos y la regulación de la inmunorreacción, o ambas cosas
CD84. 72 a 86 kDa. GR6.	Virtualmente todos los timocitos, monocitos, plaquetas, células B circulantes	Desconocida
CD85. 110 kDa. GR4.	Monocitos, macrófagos, células dendríticas, granulocitos, una subpoblación de linfocitos T	Supresión de la citotoxicidad mediada por células NK
CD86. 80 kDa. B7.2, B70; glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Células dendríticas, células B de memoria, células B de centros germinales, monocitos	Importante molécula coestimulatoria de células T, al interactuar con CD28 (estimulatoria) y con CD152/CTLA4 (inhibitoria)
CD87. 32 a 56 kDa (monocitos). Receptor de activador de plasminógeno y urocinasa (uPAR); glucoproteína monocatenaria anclada a GPI.	Células T, células NK, monocitos, neutrófilos; células no hematopoyéticas como las endoteliales vasculares, fibroblastos, células de músculo liso, queratinocitos, trofoblastos placentarios, hepatocitos	Receptor para uPA, capaz de convertir el plasminógeno en plasmina; posible participación en adherencia y quimiotaxis dependiente de integrina β2; podría intervenir en el proceso de invasión de células neoplásicas e inflamatorias
CD88. 43 kDa. Receptor de C5a, C5aR; glucoproteína tipo 3 de siete pases por membrana, miembro de la superfamilia de proteínas de siete pases por membrana (TM7SF).	Granulocitos, monocitos, células dendríticas, astrocitos, células de microglia, hepatocitos, macrófagos alveolares, células del endotelio vascular	Inflamación mediada por C5a; activación de granulocitos; posible papel en la inmunidad de mucosas
CD89. 45 a 70, 55 a 75, 70 a 100, 50 a 65 kDa. Receptor de Fcα (Fcα-R), Receptor de Fc de IgA, receptor de IgA; glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Células de linaje mieloide de promielocitos a neutrófilos y de promonocitos a monocitos; eosinófilos activados, macrófagos alveolares y esplénicos; subgrupo de células T y B	Inducción de fagocitosis, desgranulación, explosión respiratoria, destrucción de microorganismos
CD90. 25 a 35 kDa. Thy-1; glucoproteína monocatenaria anclada a GPI.	Células madre hematopoyéticas, neuronas, tejido conectivo, timocitos, células T periféricas, endotelio de HEV de ganglios linfáticos humanos	Posible participación en la coestimulación de linfocitos; posible inhibición de la proliferación y diferenciación de células madre hematopoyéticas

(continúa)

Antígeno CD. Peso molecular. Sinónimos y propiedades	Expresión leucocítica	Función
CD91. 515, 85 kDa. Receptor de α-2-macroglobulina (ALPHA2M-R), proteína relacionada con el receptor de lipoproteína de baja densidad (LRP); glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Fagocitos, muchas células no hematopoyéticas	Receptor mediador de la endocitosis expresado en depresiones recubiertas que al parecer intervienen en la regulación de la actividad proteolítica y el metabolismo de lipoproteínas
CD92. 70 kDa. Antes conocida como CDw92; CTL1, GR9.	Monocitos, granulocitos, linfocitos de sangre periférica (PBL), mastocitos	Desconocida; posible papel en la transducción de señales
CD93. 110 kDa. Antes conocida como CDw93; GR11.	Monocitos, granulocitos, células endoteliales	Desconocida
CD94. 70 kDa. Kp43; forma complejo con receptores de NKG2-A, lectina tipo C.	Células NK, subgrupos de células T CD8$^+$ αβ y γδ	Dependiendo de la molécula de NKG2 a que se una, puede activar o inhibir la citotoxicidad de células NK y la liberación de citocina
CD95. 45 kDa. APO-1, antígeno Fas (Fas); superfamilia de receptores de TNF, glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Células T y B activadas, monocitos, fibroblastos, neutrófilos	Media las señales inductoras de apoptosis
CD96. 160 kDa. Expresión tardía incrementada de la activación de células T (TACTILE); glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Células T activadas, células NK	Adhesión de células T y NK activadas durante la fase tardía de la inmunorreacción; también interviene en la presentación de antígeno, la activación de linfocitos o ambas cosas
CD97. 75 a 85 kDa (PBMC, CD97a), 28 kDa (PBMC, CD97b). BL-KDD/F12; miembro de la subfamilia EGF-TM7, glucoproteína tipo 3 de siete pases por membrana, tres isoformas.	Células B y T activadas, monocitos, granulocitos	Unión a CD55, migración de neutrófilos
CD98. 80 y 45 kDa. 4F2, FRP-1, RL-388 en el ratón; glucoproteína heterodimérica tipo 2 unida por disulfuro.	Células no hematopoyéticas específicas; células activadas y transformadas; niveles más bajos en células inactivas; altos en monocitos	Participa en la regulación de la activación celular y la agregación
CD99. 32 kDa. CD99R (epítopo restringido a un subgrupo de moléculas CD99), E2, producto del gen *MIC2*; glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Todos los leucocitos; máxima en timocitos	Aumenta la adhesión de células T, induce apoptosis de timocitos doblemente positivos, participa en la migración leucocítica, interviene en la activación y adhesión de células T, se une a ciclofilina A
CD100. 150 kDa (blastos PHA), 120 kDa (soluble). Glucoproteína homodimérica tipo 1 unida por disulfuro.	La mayor parte de las células hematopoyéticas, excepto células inmaduras de la médula ósea, eritrocitos y plaquetas; células T activadas, células B de centros germinales	Migración de monocitos, activación de células T y B e interacción entre células T-B y T-dendríticas; se ha demostrado que induce proliferación de células T
CD101. 120 kDa. P126, V7; glucoproteína homodimérica tipo 1 unida por disulfuro.	Monocitos, granulocitos, células dendríticas, células T de mucosas, células T activadas de sangre periférica; débil en células T, B y NK en reposo	Posible participación coestimuladora en la activación de células T
CD102. 55 a 65 kDa. Molécula 2 de adhesión intercelular (ICAM-2); glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Células endoteliales vasculares, monocitos, plaquetas, algunas poblaciones de linfocitos en reposo	Como las proteínas afines CD54 y CD50, se une a CD11a/CD18 LFA-1; se informa que también se une a CD11b/CD18 Mac-1; podría participar en la recirculación de linfocitos. Se ha demostrado que media interacciones adhesivas importantes para la inmunorreacción específica de antígeno, la depuración mediada por células NK, la recirculación de linfocitos y otras interacciones celulares importantes para la inmunorreacción y la vigilancia inmunitaria; también podría intervenir en la activación y adhesión de células T
CD103. 175 kDa, 25 kDa. HML-1, cadena αE de integrina; glucopéptido tipo 1 de cadena α.	Linfocitos intraepiteliales (en tejidos como intestino, bronquios, o piel, mama o glándulas salivales inflamadas), muchas células T de la lámina propia, algunos linfocitos en sangre periférica y órganos linfoides periféricos	Se une a cadherina E e integrina 7; participa en la retención de linfocitos específica de tejido en la superficie basolateral de las células epiteliales intestinales; posible molécula accesoria para la activación de los linfocitos intraepiteliales

Antígeno CD. Peso molecular. Sinónimos y propiedades	**Expresión leucocítica**	**Función**
CD104. 220 kDa. Cadena β4 de integrina, antígeno 180 de proteína específica de tumor (TSP-1180) en el ratón; glucopéptido tipo 1 de cadena β.	Timocitos CD4$^+$, CD8$^+$; células neuronales, epiteliales y algunas endoteliales; células de Schwann; trofoblastos	Integrina que se relaciona con CD49f, se une a lamininas y plectina, e interactúa con filamentos de queratina intracelularmente; participa en interacciones célula-célula y célula-matriz, adhesión y migración; importante en la adhesión de epitelios a membranas basales
CD105. 90 kDa. Endoglina; receptor tipo II de TGFβ, glucoproteína homodimérica tipo 1 unida por disulfuro.	Células endoteliales de vasos pequeños y grandes; monocitos activados y macrófagos tisulares; células estromales de ciertos tejidos, inclusive médula ósea; células pre-B en la médula fetal; precursores eritroides en médula ósea adulta y fetal; sinciciotrofoblasto durante todo el embarazo y citotrofoblastos en forma transitoria durante el primer trimestre	Modulador de respuestas celulares a TGF-β1
CD106. 100 a 110 kDa. INCAM-110, molécula 1 de adhesión celular vascular (VCAM-1); glucoproteína monocatenaria tipo 1 con múltiples isoformas.	Células endoteliales, células dendríticas foliculares e interfoliculares, algunos macrófagos, células estromales de médula ósea, poblaciones no vasculares dentro de articulaciones, riñón, músculo, corazón, placenta y encéfalo; puede inducirse en endotelios y otros tipos celulares en respuesta a citocinas inflamatorias	Molécula de adhesión que actúa como ligando para VLA-4; interviene en adhesión leucocítica, transmigración y coestimulación de la proliferación de células T; contribuye a la extravasación de linfocitos, monocitos, basófilos y eosinófilos pero no de neutrófilos desde los vasos sanguíneos
CD107a. 100 a 120 kDa. Proteína 1 de membrana relacionada con lisosoma (LAMP-1); glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Plaquetas activadas, células endoteliales, epitelio amigdalino, granulocitos, células T, macrófagos, células dendríticas, membrana lisosómica, plaquetas desgranuladas, células T activadas por PHA, endotelio activado por TNF-α, neutrófilos activados por FMLP	Relacionada con un mayor potencial metastásico de células tumorales
CD107b. 100 a 120 kDa. Proteína 2 de membrana relacionada con lisosoma (LAMP-2); glucoproteína monocatenaria tipo 1, isoformas específicas de tejido.	Granulocitos, membrana lisosómica, plaquetas activadas y desgranuladas, endotelio activado por TNF-α, neutrófilos activados por FMLP, epitelio amigdalino	Protección, mantenimiento y adhesión de lisosomas; relacionada con un mayor potencial metastásico de células tumorales
CD108. 80 kDa. Antes conocido como CDw108. Antígeno de grupo sanguíneo humano John-Milton-Hagen (JMH); glucoproteína anclada a GPI.	Eritrocitos, linfocitos circulantes, linfoblastos	Podría participar en la activación de monocitos y en la regulación de células inmunitarias
CD109. 175 kDa. 8A3, E123 (7D1); glucoproteína anclada a GPI.	Células T activadas, plaquetas activadas, células endoteliales humanas de cordón umbilical	Desconocida
CD110. 85 a 92 kDa. Oncogén del virus de la leucemia mieloproliferativa (MPL), receptor de trombopoyetina (TPO-R), C-MPL; superfamilia de receptores de citocina, glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Células progenitoras y madre hematopoyéticas, progenitoras de megacariocitos, megacariocitos, plaquetas	Se une a trombopoyetina; principal regulador de la formación de megacariocitos y plaquetas
CD111. 75 kDa. Receptor tipo Ig de herpesvirus (HIgR), antígeno 1 relacionado con receptor de poliovirus (PRR1, PVRL1), nectina 1, HevC; glucoproteína tipo 1, miembro de la familia de las nectinas.	Se expresa en múltiples tipos celulares intracelularmente y en estructuras parecidas a vesículas	Moléculas de adhesión célula-célula tipo inmunoglobulina independientes de Ca^{2+}; importantes en la formación de muchos tipos de uniones y contactos célula-célula
CD112. 72 kDa (isoforma larga), 64 kDa (isoforma corta), proteína de ingreso de herpesvirus (HVEP), antígeno 2 relacionado con receptor de poliovirus (PRR2, PVRL2), nectina 2; glucoproteína tipo 1, miembro de la familia de las nectinas.	Múltiples tejidos y linajes celulares	Función hematopoyética incierta; participa en la actividad de entrada de herpesvirus y podría actuar como correceptor para HSV-1, HSV-2 y seudorrabia
CDw113. Antígeno 3 relacionado con receptor de poliovirus (PRR3, PVRL3), nectina 3; proteína transmembranal.	Células epiteliales, testículos, hígado y placenta	Interactúa con CD111 (nectina 1) y CD112 (nectina 2); función incierta, probablemente participa en la adhesión
CD114. 150 kDa. CSF3R, HG-CSFR, receptor de factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSFR).	Todas las etapas de diferenciación de granulocitos; monocitos, plaquetas maduras, varios tipos de células no hematopoyéticas y tejidos, inclusive células endoteliales, placenta, células trofoblásticas	Regulador específico de proliferación y diferenciación mieloides

(continúa)

Antígeno CD. Peso molecular. Sinónimos y propiedades	**Expresión leucocítica**	**Función**
CD115. 150 kDa. C-fms, factor 1R estimulante de colonias (CSF-1R), receptor de factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSFR).	Monocitos, macrófagos	Receptor de factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF)
CD116. 80 kDa. Cadena α del receptor de GM-CSF; miembro de la superfamilia de receptores de citocina, glucoproteína tipo 1 de cadena α.	Diversas células mieloides, inclusive macrófagos, neutrófilos, eosinófilos; células dendríticas y sus precursores; fibroblastos, células endoteliales	Subunidad de unión primaria del receptor de GM-CSF
CD177. 145 kDa. c-KIT, receptor de factor de células madre (SCFR); glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Células madre hematopoyéticas y células progenitoras, mastocitos, células estromales de la médula ósea	Receptor de factor de células madre, actividad de tirosincinasa; receptor de factor de crecimiento hematopoyético de acción temprana, necesario para el desarrollo de progenitoras hematopoyéticas; capaz de inducir proliferación de mastocitos; factor de supervivencia para células germinales primordiales
CD118. 190 kDa. Receptor de LIF, gp190; proteína transmembranal perteneciente a la superfamilia de receptores de citocina tipo 1, forma un heterodímero con gp130.	Células epiteliales del adulto y embrionarias, monocitos, fibroblastos, células madre embrionarias, hígado, placenta	Receptor de alta afinidad (en complejo con gp130) para factor inhibidor de leucemia (LIF); diferenciación celular, transducción de señales y proliferación
CD119. 90 a 100 kDa. IFN-γR, IFN-γRa; receptor de citocina clase 2, glucopéptido tipo 1.	Monocitos, macrófagos, células B y T, células NK, neutrófilos, fibroblastos, células epiteliales, endotelio, una amplia gama de células tumorales	Receptor de interferón; participa en la defensa del hospedador y el inicio de las fases efectoras de las inmunorreacciones, incluyendo activación de macrófagos, diferenciación de células B y T, activación de células NK, aumento de la expresión de antígenos MHC clases I y II
CD120a. 50 a 60 kDa. TNFRI, p55; miembro de la superfamilia de receptores de TNF, glucoproteína monocatenaria tipo 1.	De manera constitutiva en células hematopoyéticas y no hematopoyéticas; máximo en células epiteliales	Receptor de TNF y linfotoxina α; media la señalización implicada en las reacciones celulares proinflamatorias, la muerte celular programada y la actividad antivírica
CD120b. 75 a 85 kDa. TNFRII, p75; miembro de la superfamilia de receptores de TNF, glucoproteína monocatenaria tipo 1.	De manera constitutiva en células hematopoyéticas y no hematopoyéticas; máximo en células epiteliales	Receptor de TNF y linfotoxina α; media la señalización implicada en las reacciones celulares proinflamatorias, la muerte celular programada y la actividad antivírica
CD121a. 80 kDa. IL-1R, IL-1R tipo 1; glucoproteína tipo 1.	Células T, timocitos, condrocitos, células sinoviales, hepatocitos, células endoteliales, queratinocitos; bajos niveles en fibroblastos, linfocitos, monocitos, macrófagos, granulocitos y células dendríticas, epiteliales y neurales	Receptor de interleucina 1 tipo I; media la activación de timocitos y células T, la proliferación de fibroblastos, la inducción de proteínas de fase aguda y las reacciones inflamatorias
CDw121b. 60 a 70 kDa. IL-1R tipo 2; glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Células B, macrófagos, monocitos, neutrófilos	Receptor de interleucina 1 tipo I, probablemente un receptor señuelo sin una función real
CD122. 70 a 75 kDa. Cadena β del receptor de interleucina 2 (IL-2Rβ); superfamilia de receptores de citocina, glucopéptido tipo 1.	Células T activadas, células B, células NK, monocitos, macrófagos, subgrupo de células T en reposo	Componente crítico de la señalización mediada por IL-2 e IL-15; interviene en la inmunorreacción mediada por células T; promueve la proliferación y la activación de células T, timocitos, macrófagos, células B y células NK
Cd123. 70 kDa. Subunidad α del receptor de IL-3 (IL-3Rα).	Células madre de médula ósea, granulocitos, monocitos, megacariocitos	Cadena del receptor de IL-3
CD124. 140 kDa. IL-4R, IL-13R (cadena α); superfamilia de receptores de citocina, glucopéptido α tipo 1.	Células B y T maduras, precursores hematopoyéticos, fibroblastos, células epiteliales y endoteliales, células hematopoyéticas y no hematopoyéticas	Subunidad receptora de IL-4 e IL-13
CDw125. 60 kDa. IL-5Rα; superfamilia de receptores de citocina, glucopéptido α tipo 1; también existe como forma soluble.	Eosinófilos, células B activadas, basófilos, mastocitos	Receptor de baja afinidad para IL-5; cadena α del receptor de IL-5; la forma secretada antagoniza la activación y proliferación de eosinófilos inducidas por IL-5
CD126. 80 kDa. Receptor de interleucina 6 (IL-6R); se relaciona con CD130, superfamilia de receptores de citocina, glucopéptido α tipo 1; también existe en forma soluble.	Células T, monocitos, células B activadas, hepatocitos, algunas otras células no hematopoyéticas	Receptor para IL-6; la forma soluble es capaz de unirse a gp130 en las células y promover respuestas inducidas por IL-6

Antígeno CD. Peso molecular. Sinónimos y propiedades	**Expresión leucocítica**	**Función**
CD127. 65 a 75, 90 kDa. Receptor de IL-7 (IL-7R), cadena α del receptor de IL-7 (IL-7Rα); p90; superfamilia de receptores de citocina, glucopéptido α tipo 1.	Precursoras de células B, células T maduras en reposo, timocitos	Receptor específico para IL-7; podría regular el reordenamiento de los genes de inmunoglobulina
CDw128b. 58 a 67 kDa. CXCR2, receptor B de interleucina 8 (IL-8RB); CD181; familia 1 de receptores de proteína acoplados a G.	Véase CD181	Véase CD181
CD129. 60 a 65 kDa. CD129 (cadena α), IL9R; glucopéptido tipo 1 de cadena α.	Líneas de células T activadas, células T y B, tanto precursores eritroides como mieloides	Receptor para IL-9; promueve la proliferación de células T activadas, la generación de precursores eritroides y mieloides
CD130. 130 a 140 kDa. IL-6R*β*, IL-11R, gp130; superfamilia de receptores de citocina, glucoproteína tipo 1 monocatenario.	Células T, monocitos, células endoteliales; niveles altos en células B activadas y transformadas por EBV, células plasmáticas, y mielomas; menores niveles en la mayoría de los leucocitos, células epiteliales, fibroblastos, hepatocitos, células neurales	Su unión al complejo CD126/IL-6R lo estabiliza, lo que da por resultado la formación de un receptor de alta afinidad; necesario para la transducción de señales por IL-6, IL-11, factor inhibidor de leucemia, factor neurotrófico ciliar, oncostatina M y cardiotrofina 1
CD131. 120 a 140 kDa. GM-CSFR, IL-3R, IL-5R (cadena *β*); subunidad β común, superfamilia de receptores de citocina, glucoproteína tipo 1 de cadena *β*.	Fibroblastos y células endoteliales; la mayor parte de las células mieloides, inclusive las progenitoras tempranas, células B tempranas	Subunidad receptora necesaria para la transducción de señales por los receptores de IL-3, GM-CSF e IL-5
CD132. 64, 65 a 70 kDa. Cadena γ común del receptor de citocina, cadena γ común, miembro de la superfamilia de receptores de citocina, glucopéptido tipo 1 de cadena γ.	Células T, células B, células NK, monocitos/macrófagos, neutrófilos	Subunidad de los receptores de IL-2, IL-4, IL-7, IL-9 e IL-15
CD133. 115 a 125 kDa. AC133, antígeno de células madre hematopoyéticas, antígeno 1 tipo prominina (PROML1), prominina; glucoproteína de dominio de cinco pases por membrana.	Células madre hematopoyéticas, células endoteliales y epiteliales	Marcador de células madre sin función conocida
CD134. 47 a 51 kDa. OX40; superfamilia de receptores de TNF, glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Células T activadas y reguladoras	La unión a ligando de OX-40 induce la proliferación y activación de células B y su producción de Ig; proporciona coestimulación necesaria para proliferación, activación, adhesión, diferenciación, apoptosis de células T
CD135. 155 a 160 kDa. Tirosincinasa 3 tipo FMS (flt3), Flk-2 en ratones, STK-1; receptor de tirosincinasa tipo 3, glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Progenitoras multipotenciales, mielomonocíticas y células B primitivas	Receptor del factor de crecimiento para las progenitoras hematopoyéticas tempranas, tirosincinasa
CDw136. 150, 40 kDa. Receptor de proteína estimulante de macrófagos (receptor msp), ron (p158-ron); familia de receptores de tirosincinasa, glucoproteína heterodimérica monocatenaria tipo 1.	Macrófagos; tejidos epiteliales inclusive piel, riñón, pulmón, hígado, intestino, colon	Inducción de migración, cambio morfológico, inducción de citocinas, fagocitosis, proliferación y apoptosis en diferentes células blanco; podría intervenir en inflamación, cicatrización, los mecanismos de activación en la proliferación invasiva y el movimiento de tumores epiteliales
CDw137. 39 kDa. 4-1BB, inducida por activación de linfocitos (ILA), superfamilia de receptores de TNF, glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Células T, células B, monocitos, células epiteliales y de hepatoma	Coestimulador de la proliferación de células T a través de la unión a 4-1 BBL
CD138. 92 kDa (células B inmaduras, 85 kDa (células plasmáticas). Proteoglucano sulfato de heparina, syndecan-1; glucoproteína tipo 1.	Células pre-B, células B inmaduras y células plasmáticas pero no linfocitos B maduros circulantes; superficies basolaterales de células epiteliales, células mesenquimatosas embrionarias, células de músculo liso vascular, endotelio, células neurales, células de cáncer mamario	Se une a muchas proteínas de la matriz extracelular y media la adhesión y la proliferación celulares
CD139. 205 a 230 kDa. B-031.	Células B, monocitos, granulocitos, células dendríticas foliculares, eritrocitos	Desconocida

(continúa)

Antígeno CD. Peso molecular. Sinónimos y propiedades	Expresión leucocítica	Función
CD140a. 180 kDa. Receptor de PDGF (PDGF-R), PDGFR, receptor de factor α de crecimiento derivado de plaquetas (PGDFRα); receptor de tirosincinasa, familia tipo 3.	Células mesenquimatosas	Receptor para el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF); participa en proliferación, diferenciación y supervivencia celulares y en la transducción de señales relacionada con PDGFR
CD140b. 180 kDa. Receptor de factor β de crecimiento derivado de plaquetas (PDGFRβ); receptor de tirosincinasa, familia tipo 3.	Células endoteliales, subgrupos de células estromales, células mesenquimatosas	Receptor para el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF); participa en proliferación, diferenciación y supervivencia celulares y en la transducción de señales relacionada con PDGFR
CD141. 105 kDa. Fetomodulina, trombomodulina (TM); lectina tipo C, glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Células endoteliales, megacariocitos, plaquetas, monocitos, neutrófilos	Molécula esencial para la activación de proteína C y el inicio de la vía anticoagulante de la proteína C
CD142. 45 a 47 kDa. Factor de coagulación III, tromboplastina, factor tisular (TF); cofactor de proteasa de serina, glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Altos niveles en queratinocitos epidérmicos, células epiteliales glomerulares y varios otros epitelios; inducible en monocitos y células endoteliales vasculares por diversos mediadores inflamatorios	Inicia el ensamblaje y la propagación de la cascada de proteasas de la coagulación, interviene en la homeostasis normal y es un componente de la inmunorreacción celular; podría participar en la metástasis de tumores, el cáncer mamario, la hiperplasia y la angiogénesis
CD143. 170, 180, 90, 110 kDa. EC 3.4.15.1, enzima convertidora de angiotensina (ACE), cinasa II, peptidildipeptidasa A; glucoproteína tipo 1.	Células endoteliales, macrófagos activados, débilmente en subgrupos de células T, algunos subgrupos de células dendríticas	Enzima importante en la regulación de la presión arterial, actúa sobre todo como hidrolasa de peptidildipéptidos y participa en el metabolismo de dos péptidos vasoactivos primordiales, angiotensina II y bradicinina
CD144. 130 kDa. Cadherina 5, VE-cadherina; glucoproteína tipo 1.	Endotelio, subgrupos de células madre	Control de la adhesión, permeabilidad y migración entre células endoteliales
CDw145. 25 kDa, 90 kDa, 110 kDa.	Elevada en células endoteliales	Desconocida
CD146. 130 kDa. A32, MCAM, MUC18, mel-CAM, S-endo; glucoproteína tipo 1.	Células dendríticas foliculares, endotelio, melanoma, músculo liso, trofoblasto intermedio, una subpoblación de células T activadas	Posible molécula de adhesión
CD147. 55 a 65 kDa. 5A11, basigina, CE9, HT7, M6, neurotelina, OX-47, inductor de metaloproteinasa de matriz extracelular (EMMPRIN), gp42 en ratones; glucoproteína tipo 1.	Todos los leucocitos, eritrocitos, plaquetas, células endoteliales	Posible molécula de adhesión; interviene en la regulación de la actividad de las células T
CD148. 240 a 260, 200 a 250 kDa. HPTP-eta, PTP 1 intensificado de alta densidad celular (DEP-1), p260; glucoproteína monocatenaria tipo 1 perteneciente a la familia de las tirosinfosfatasas de proteína (PTP).	Granulocitos, monocitos, débilmente en células T en reposo y aumento después de la activación, altos niveles en células T de memoria, células dendríticas, plaquetas, fibroblastos, células nerviosas, células de Kupffer	Regula las vías de señalización de diversos procesos celulares, incluidos proliferación, diferenciación, ciclo mitótico y transformación oncogénica, inhibición por contacto de la proliferación celular
CD150. 75 a 95, 70 kDa. Antes conocido como CDw150, IPO-3 molécula de activación de linfocitos para señalización (SLAM); glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Timocitos, subpoblación de células T, células B, células dendríticas, células endoteliales	Coestimulación de células B y dendríticas, activación de células T; contribuye a fomentar las funciones inmunoestimuladoras de las células dendríticas
CD151. 27 kDa. PETA-3, SFA-1. Familia de las tetraspininas, glucoproteína monocatenaria tipo 3 de cuatro pases por membrana.	Plaquetas, megacariocitos, células hematopoyéticas inmaduras, células endoteliales	Molécula de adhesión, podría regular el tráfico o la actividad (o ambas cosas) de las integrinas; fomenta la motilidad celular, la invasión y la metástasis de células cancerosas
CD152. ~33 kDa. Proteína 4 relacionada con linfocitos T citotóxicos (CTLA-4), glucoproteína homodimérica tipo 1 unida por disulfuro.	Células T activadas, tal vez algunas células B activadas	Regulador negativo de la activación de células T
CD153. 40 kDa. Ligando de CD30, CD30L; superfamilia de TNF, glucoproteína monocatenaria tipo 2.	Células T activadas, macrófagos activados, neutrófilos, células B	Ligando para CD30; coestimula las células T
CD154. 33 kDa. Ligando de CD40 (CD40L), T-BAM, proteína de activación relacionada con TNF (TRAP), gp39; superfamilia de TNF, glucoproteína homotrimérica tipo 2.	Células CD4 activadas, pequeños subgrupos de células T CD8$^+$ y células T γδ; también basófilos activados, plaquetas, monocitos, mastocitos	Ligando para CD40, inductor de proliferación y activación de células B, cambio de clase de anticuerpos y formación de centros germinales; molécula coestimuladora y regulador de la generación y la actividad de células T_H1; participa en la selección negativa y la tolerancia periférica

Antígeno CD. Peso molecular. Sinónimos y propiedades	**Expresión leucocítica**	**Función**
CD155. 80 a 90 kDa. Receptor del virus de la polio (PVR).	Monocitos, macrófagos, timocitos, neuronas del SNC	Se desconoce la función normal; receptor para poliovirus
CD156a. 69 kDa. ADAM8, MS2 humano; glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Neutrófilos, monocitos	Interviene en inflamación y adhesión celular; podría participar en la diferenciación muscular, la transducción de señales; posible papel en la extravasación de leucocitos
CD156. 100 a 120 kDa. Dominio 17 de desintegrina A y metaloproteinasa (ADAM17), enzima convertidora de TNFα (TACE), proteasa tipo veneno de serpiente (cSVP); forma procesada y no procesada, glucoproteína tipo 1.	Células T, neutrófilos, células endoteliales, monocitos, células dendríticas, macrófagos, leucocitos polimorfonucleares, miocitos	Principal proteasa que escinde formas transmembranales de TNF-α y TGF-α para generar formas solubles
CD157. 42 a 45, 50 kDa. BP-3/IF-7, BST-1, Mo5; proteína monocatenaria anclada a GPI.	Granulocitos, monocitos, macrófagos, algunas progenitoras de células B, algunas progenitoras de células T	Apoya la proliferación de progenitoras linfocíticos
CD158a. 58, 50 kDa. KIR2DL1, EB6, receptores específicos de MHC clase I, p50.1, p58.1; miembro de la familia de receptores tipo inmunoglobulina de células asesinas (KIR), glucoproteína tipo 1.	Mayor parte de las células NK, algunos subgrupos de células T	Supresión de la actividad citolítica mediada por células NK y CTL al interactuar con los alelos HLA-C apropiados
CD158b. 58, 50 kDa. GL183, receptores específicos de MHC clase I, p50.2, p58.2; miembro de la familia de receptores tipo inmunoglobulina de células asesinas (KIR), glucoproteína tipo 1.	Mayor parte de las células NK, algunos subgrupos de células T	Supresión de la actividad citolítica mediada por células NK y CTL al interactuar con los alelos HLA-C apropiados
CD159a. 43 kDa. NKG2. Miembro 1 de la subfamilia C de receptores tipo lectina de células asesinas (KLRC1); glucoproteína tipo 2 y miembro de la familia NKG2, heterodímeros unidos por disulfuro enlazados de manera covalente a CD94.	Líneas de células NK, células T CD8$^+$ γδ, algunas clonas y líneas de células T	Potente regulador negativo de los programas de activación de células NK y linfocitos T; implicado en la activación y la inhibición de la citotoxicidad mediada por células NK y la secreción de citocina
CD160. 27 kDa. Antígeno BY55, NK1, NK28; se expresa como multímero unido por disulfuro en la superficie celular, glucoproteína anclada a GPI tipo 2.	Células NK de sangre periférica y células T CD8$^+$, IEL	Se une a HLA-C, proporciona señales coestimulatorias en linfocitos T CD8$^+$
CD161. ~40 kDa. NKR-P1A, miembro 1 de la subfamilia B de receptores tipo lectina de células asesinas (KLRB1); lectina tipo C, glucoproteína homodimérica tipo 2 unida por disulfuro.	Mayor parte de las células NK, un subgrupo de células T CD4$^+$ y CD8$^+$, timocitos	Podría intervenir en la citotoxicidad mediada por células NK, inducción de la proliferación de timocitos inmaduros
CD162. 110 a 120 kDa. PSGL-1; glucoproteína homodimérica tipo 1 tipo mucina unida por disulfuro.	La mayor parte de las células T de sangre periférica, monocitos, granulocitos, células B	Principal ligando de CD62P en neutrófilos y linfocitos T, media la adhesión y el rodamiento leucocítico y la fijación a células endoteliales
CD162R. 140 kDa. Modificación postraduccional de PSGL-1 (PEN5), PSGL1, ligando de selectina P (SELPLG); carbohidrato poli-N-lactosama.	Células NK	Crea un sitio de unión único para selectina L; podría ser un marcador de células NK específico de la etapa del desarrollo único
CD163. 130 kDa. GHI/61, M130; glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Monocitos, macrófagos, células mieloides; bajo nivel en linfocitos, células estromales de la médula ósea, subgrupo de progenitoras eritroides	Participa en la interacción de células progenitoras hematopoyéticas y células estromales y en la endocitosis
CD164. 80 a 100 kDa. MUC-24, proteína 24 central multiglucosilada (MGC-24v); glucoproteína tipo 1.	Linfocitos, células epiteliales, monocitos, granulocitos	Principalmente intracelular; facilita la adhesión de CD34$^+$ e interviene en la regulación de la proliferación de células hematopoyéticas
CD165. 42 kDa. AD2, gp37; glucoproteína de membrana.	Linfocitos periféricos, timocitos inmaduros, monocitos, la mayor parte de las plaquetas; bajo nivel en timocitos y células epiteliales tímicas	Interacciones adhesivas que incluyen adhesión entre timocitos y células epiteliales del timo; formación de plaquetas
CD166. 100 a 105 kDa. BEN, DM-GRASP, KG-CAM, neurolina, SC-1, molécula de adhesión celular leucocítica activada (ALCAM); glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Células T activadas, monocitos activados, epitelio, neuronas, fibroblastos, células epiteliales de corteza y médula tímicas	Molécula de adhesión que se une a CD6; interviene en la extensión de neuritas por neuronas a través de interacciones heterófilas y homófilas; podría participar en el desarrollo de las células T

(continúa)

Antígeno CD. Peso molecular. Sinónimos y propiedades	**Expresión leucocítica**	**Función**
CD167a. 129 kDa. Subunidad α 54 kDa, subunidad β 63 kDa. DDR1 (miembro 1 de la familia de dominios de discoidina), tirosincinasa de receptor.	Sobre todo células epiteliales normales y transformadas, células dendríticas	Molécula de adhesión y receptor de colágena
CD168. 80, 84, 80 kDa. RHAMM (receptor para motilidad mediada por hialuronano); familia de receptores de unión a hialuronano (HA).	Timocitos, linaje mielomonocítico y células dendríticas; aumenta en linfocitos activados	Se expresa en un receptor de unión a hialuronano que participa en la motilidad dependiente de hialuronano de timocitos, linfocitos, células progenitoras hematopoyéticas y linfocitos B malignos; adhesión de progenitoras tempranas de timocitos a la matriz
CD169. 220 kDa. SIGLEC-1 (lectina 1 tipo Ig de unión a ácido siálico); sialoadhesina, glucoproteína monocatenaria tipo 1; la forma soluble resulta del empalme alternado.	Macrófagos, células dendríticas	Media las interacciones entre células mediante la unión a ligandos sialilados en neutrófilos, monocitos, células NK, células B y un subgrupo de células T CD8$^+$; puede actuar como plantilla de receptor de reconocimiento entre lo propio y lo extraño y mediar señales negativas
CD170. 140 kDa. SIGLEC-5 (lectina 1 tipo Ig de unión a ácido siálico); glucoproteína tipo 1.	Células dendríticas, macrófagos, neutrófilos	Puede actuar como plantilla de receptor de reconocimiento entre lo propio y lo extraño y mediar señales negativas
Cd171. 200 a 230 kDa. Molécula de adhesión celular L1; glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Expresión baja a intermedia en células linfoides y mielomonocíticas humanas, inclusive células T CD4$^+$, un subgrupo de células B, monocitos, células dendríticas derivadas de monocitos, muchas células del sistema nervioso central y el periférico	Molécula de adhesión celular que participa en el mantenimiento de la arquitectura del ganglio linfático durante una respuesta inmunitaria; morfogénesis renal
CD172a. 110 kDa. Proteína reguladora de señales (SIRPα-1); glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Células madre/progenitoras CD34$^+$, macrófagos, monocitos, granulocitos, células dendríticas; también en tejido del SNC	Regulación negativa de procesos de señalización de receptor acoplados a tirosincinasa; podría participar en la respuesta a factores de crecimiento y la adhesión celular
CD173. H2; antígeno O de grupo sanguíneo.	Entre las células hematopoyéticas, presente en eritrocitos y precursores hematopoyéticos CD34$^+$	Oligosacárido transportado por glucoproteína; función desconocida
CD174. Antígeno de grupo sanguíneo Lewis Y.	Entre las células hematopoyéticas, presente en eritrocitos y precursores hematopoyéticos CD34$^+$	Nuevo marcador de células progenitoras hematopoyéticas; oligosacárido transportado por glucoproteína; función desconocida pero se correlaciona con la apoptosis; podría participar en el direccionamiento de células madre hematopoyéticas
CD175. Tn; carbohidrato, antígeno específico de tumor.	Variedad de células leucémicas, células epiteliales, células hematopoyéticas de la médula ósea, linaje mieloide	Desconocida
CD175s. Sialil-Tn; carbohidrato, antígeno específico de tumor.	Células epiteliales y endoteliales y eritroblastos	Se ha demostrado que se une a CD22, Siglec 3-5 y 6; función desconocida
CD176. Antígeno de Thomson-Friedrenreich (TF): antígeno carbohidrato relacionado con grupo histosanguíneo.	Células endoteliales y eritrocitos, diferentes tipos de carcinomas; células precursoras hematopoyéticas CD34$^+$ de la médula ósea y en diversas líneas de células hematopoyéticas	Podría participar en la metástasis tumoral, por ejemplo de tumores hepáticos y células de leucemia positivas
CD177. 58 a 64 kDa. NB1, antígeno 2a de neutrófilos humanos (HNA-2A); glucoproteína monocatenaria de membrana plasmática anclada a GPI.	Superficies y gránulos secundarios de neutrófilos; basófilos, células NK, subgrupos de células T, monocitos y células endoteliales	Se desconoce su función en la actividad de los neutrófilos
CD178. Forma monomérica de superficie celular 40 kDa; formas solubles 26 a 30 kDa. Ligando Fas, FasL; superfamilia de TNF; glucoproteína homotrimérica tipo 2.	Expresión constitutiva o inducida en muchos tipos celulares, inclusive células T, células NK, células microgliales, neutrófilos, células no hematopoyéticas como las de la retina y el parénquima corneal	Ligando del receptor inductor de apoptosis CD95 (Fas/APO-1); efector clave de la citotoxicidad y participa en interacción Fas/FasL, apoptosis y regulación de inmunorreacciones; se ha sugerido que transduce una señal coestimuladora para la activación de linfocitos CD4$^+$ vírgenes y CD8$^+$
CD179a. 16 a 18 kDa. VpreB; polipéptido.	Se expresa de manera selectiva en células pro-B y en células pre-B tempranas	Se une a CD179b para formar la cadena ligera sustituta del receptor de células pre-B; participa en la diferenciación temprana de células B

Antígeno CD. Peso molecular. Sinónimos y propiedades	Expresión leucocítica	Función
CD179b. 22 kDa. λ5; polipéptido.	Se expresa de manera selectiva en células pro-B y en células pre-B tempranas	Se une a CD179b para formar la cadena ligera sustituta del receptor de células pre-B; participa en la diferenciación temprana de células B
CD180. 95 a 105 kDa. RP105, LY64; familia de repeticiones ricas en leucina (LRRF), glucoproteína tipo 1.	Monocitos, células dendríticas, células B de la zona del manto	Induce la activación que lleva al aumento de moléculas coestimuladoras, CD80 y CD86, y aumento del tamaño celular; promueve la susceptibilidad de células B a la muerte celular inducida por BCR pero no a la apoptosis inducida por CD95, y podría participar en la transmisión de una señal promotora del crecimiento
CD181. 58 a 67 kDa. Formalmente conocido como CDw128a, IL-8R1, IL-8RA (receptor A de interleucina 8), CXCR1 (receptor 1 de motivos C-X-C de quimiocina); receptor acoplado a proteína G (GPCR), proteína tipo 3 de siete pases por membrana.	Neutrófilos, basófilos, eosinófilos, un subgrupo de células T, monocitos, células NK y endoteliales, queratinocitos, células de melanoma	Subunidad del receptor de IL-8; interviene en la angiogénesis
CD182. 58 a 67 kDa. Formalmente conocido como CDw128b, CXCR2, receptor B de interleucina 8 (IL-8RB); receptor acoplado a proteína G (GPCR), glucoproteína tipo 3 de siete pases por membrana.	Granulocitos, neutrófilos, basófilos, eosinófilos, un subgrupo de células T, monocitos, células NK y endoteliales, queratinocitos, células de melanoma	Induce quimiotaxis de neutrófilos, basófilos y linfocitos T; activa neutrófilos y basófilos y aumenta la adhesión de neutrófilos y monocitos a las células endoteliales
CD183. 40.6 kDa. CXCR3, IP10R, Mig-R; superfamilia de proteínas de siete pases por membrana (TN7SF), glucoproteína tipo 3 de siete pases por membrana.	Células T inducidas de manera adecuada, pequeños subgrupos de células B y células NK, eosinófilos y algunas células dendríticas	Su señalización induce y regula la migración quimiotáctica de leucocitos portadores de CD183 en células T efectoras relacionadas con inflamación; también podría intervenir en la activación de células T_H1 y la producción de IFN-γ; se piensa que es esencial para el reclutamiento de células T en sitios de inflamación
CD184. ~40 kDa. CXCR4, fusina, LESTER (receptor de siete dominios transmembranales derivado de leucocitos); superfamilia de proteínas de siete pases por membrana (TN7SF), glucoproteína tipo 3 de siete pases por membrana.	Variedad de células sanguíneas y tisulares, inclusive células B y T, monocitos/macrófagos, células dendríticas, granulocitos, megacariocitos/plaquetas, células precursoras linfoides y mieloides, células endoteliales y epiteliales, astrocitos y neuronas	Correceptor para VIH; media la migración de células sanguíneas en respuesta a SDF-1 y participa en linfopoyesis B y mielopoyesis, cardiogénesis, formación de vasos sanguíneos y desarrollo cerebral; coestimulación de la proliferación de células pre-B; inducción de apoptosis
CD185. 45kDa. CXCR5, BLR1; receptor acoplado a proteína G.	Células B maduras, células de linfoma de Burkitt	Receptor de quimiocina; posible función reguladora en linfomagénesis, diferenciación de células B, activación de células B maduras
CDw186. 40 kDa. CXCR6; receptor acoplado a proteína G.	Subgrupos de células B, NK y T (T_H1)	Receptor de quimiocina, correceptor de VIS, cepas de VIH-2, y VIH-1 trópico m
CD191. 39 kDa. CCR1, MIP-1αR, RANTES-R; receptor acoplado a proteína G.	Células T, monocitos, subgrupos de células madre	Receptores de quimiocina C-C; participa en la transducción de señales vía aumento de la concentración intracelular de iones calcio
CD192. 40 kDa. CCR2, MCP-1R; receptor acoplado a proteína G.	Células NK activadas y fagocitos mononucleares, células T, células B, células endoteliales	Receptor de quimiocina; se une a MCP-1, 3 y 4 y funciona como receptor alterno para infecciones por VIH en conjunto con CD4
CD193. 45 kDa. CCR3, CKR3; receptor acoplado a proteína G.	Eosinófilos; débil en un subgrupo de células T, neutrófilos y monocitos	Receptor de quimiocina; se une a múltiples quimiocinas y funciona como receptor alterno para infecciones por VIH-1 en conjunto con CD4
CD195. 45 kDa. CCR5; receptor acoplado a proteína G de siete dominios transmembranales.	Timocitos $CD4^+$ y $CD8^+$, células de Langerhans, células dendríticas derivadas de sangre periférica, células progenitoras hematopoyéticas y microgliales, linfocitos T y macrófagos en tejidos linfoides y no linfoides	Correceptor para VIH; regula inmunorreacciones innatas y adaptativas, activación de quimiotaxis y migración transendotelial durante la inflamación y neutraliza la infección por VIH
CD197. 45 kDa. CCR7.	Mayor parte de células T vírgenes y un subconjunto de células T de memoria; células B, células dendríticas maduras, células NK, timocitos maduros unipositivos CD4 o CD8, células progenitoras de macrófagos $CD34^+$	Funciones cruciales en células T vírgenes y células dendríticas cargadas de antígeno que se dirigen a órganos secundarios; participa en la adhesión de linfocitos T y la migración de timocitos

(continúa)

Antígeno CD. Peso molecular. Sinónimos y propiedades	**Expresión leucocítica**	**Función**
CDw198. 43 kDa. CCR8; receptor acoplado a proteína G.	Subgrupos de células T de memoria, timocitos, IEL, células de melanoma, células mononucleares de la lámina propia	Receptor de quimiocina que participa en la inflamación alérgica; correceptor alterno para VIH-1 en conjunto con CD4
CDw199. CCR9; receptor acoplado a proteína G.	Subgrupos de células T, específicas del desarrollo	Receptor de quimiocina; correceptor alterno para VIH-1 en conjunción con CD4
CD200. 45 a 50 kDa. Ox2; glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Células dendríticas, timocitos, células B, endotelio vascular, trofoblastos, neuronas y algunas células T activadas en músculo liso	Podría tener una función inmunorreguladora
CD201. 50 kDa. EPC-R.	Subgrupo endotelial	Señalización de proteína C activada
CD202b. 145 kDa. TEK, TIE2.	Células madre endoteliales y hematopoyéticas	Papel crucial en la integridad de vasos durante maduración, mantenimiento y remodelado
CD203c. 130, 150 kDa. E-NPP3 B10, PDNP3, ENPP3, fosfodiesterasa intestinal bovina; familia enzimática de pirofosfatasa de ectonucleótido/fosfodiesterasa (E-NPP); glucoproteína tipo 2.	Basófilos, mastocitos, tejido uterino	Podría participar en la depuración de nucleótidos extracelulares
CD204. 220 kDa. Receptor depurador de macrófagos (MSR); glucoproteína trimérica integral de membrana.	Macrófagos alveolares, células de Kupffer hepáticas, macrófagos de la pulpa roja esplénica, macrófagos sinusoidales en ganglos linfáticos, macrófagos intersticiales	Participa en el depósito patológico de colesterol durante la aterogénesis vía receptor que media la captación de LDL; reconocimiento y eliminación de microorganismos patógenos; endocitosis de macromoléculas
CD205. 205 kDa. DEC-205.	Células dendríticas, células epiteliales tímicas	Desconocida
CD206. 162 kDa. MMR (receptor de manosa de macrófagos), MRC1 (receptor de manosa, lectina tipo C); receptores de reconocimiento de patrón, glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Subgrupo de fagocitos mononucleares (pero no monocitos circulantes), células dendríticas inmaduras, células endoteliales hepáticas y linfáticas	Receptor de reconocimiento de patrón participante en las inmunorreacciones de macrófagos y células dendríticas inmaduras; facilita endocitosis y fagocitosis; podría ser importante en la homeostasis
CD207. 40 kDa. Langerina; lectina tipo C, glucoproteína tipo 2.	Subgrupo de células dendríticas, células de Langerhans	Receptor endocítico con un dominio funcional de lectina tipo C con especificidad para manosa que facilita el reconocimiento y la captación de antígeno
CD208. 70 a 90 kDa, DC-LAMP; miembro de la familia de proteínas de membrana relacionadas con lisosoma (LAMP).	Células dendríticas	Función desconocida, pero podría participar en la carga de péptidos en moléculas MHC clase II
CD209. 45.7 kDa. DCSIGN (no integrina sujetadora de ICAM3 específica de células dendríticas), proteína de unión a GP120 de VIH; lectina tipo C.	Células dendríticas	Se une a VIH; participa en la adhesión a células endoteliales mediada por células dendríticas y en la endocitosis y degradación de antígeno
CDw210. 90 a 110 kDa. IL-10Rα y β; miembro de la familia de receptores clase 2 de citocina, glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Principalmente en células hematopoyéticas, incluidas células T y B, células NK, monocitos y macrófagos	Señalización celular e inmunorregulación; inhibe la síntesis de citocina por células T y NK activadas, monocitos y macrófagos; bloquea la actividad de célula accesoria de los macrófagos
CD212. 110, 85 kDa. IL-12Rβ; familia de receptores de hematopoyetina, receptor monocatenario tipo 1.	Células T CD4$^+$ y CD8$^+$ activadas, células NK CD56$^+$ activadas por IL-2, células T $\gamma\delta$; PBL, linfocitos de sangre de cordón umbilical, subgrupos de monocitos	Receptor tirosincinasa de membrana para angiopoyetina; interviene en la señalización celular y la inmunorregulación; efectos pleiotrópicos en células NK y T; afecta la producción de IFN-γ
CD213a1. 65 kDa. IL13RA1 (receptor α1 de interleucina 13), NR4 (en el ratón); familia de receptores hematopoyéticos, glucoproteína monocatenaria tipo 1.	La mayor parte de los tejidos humanos, hematopoyéticos y no hematopoyéticos	Componente necesario de la transducción de señales inducida por IL-3 e IL-4 en sistemas de IL4R tipo 2 pero no es regulador de las funciones de células T
CD213a2. 60 a 70 kDa. IL13RA2 (receptor α2 de interleucina 13), NR4 (en el ratón); familia de receptores hematopoyéticos, glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Células B, monocitos, PBL de cordón umbilical, fibroblastos, DC inmaduras	Inhibe la unión de IL-13 a su receptor de superficie celular

Antígeno CD. Peso molecular. Sinónimos y propiedades	**Expresión leucocítica**	**Función**
CDw217. 120 kDa. IL-17R; familia de receptores hematopoyéticos, glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Células B, T, NK, sangre de cordón umbilical, PBL, timocitos; fibroblastos, células epiteliales, monocitos, macrófagos, granulocitos	Desconocida
CDw218a. 70 kDa. IL-18Rα, IL-1Rrp; familia de receptores de IL-1.	Células T, células NK, células dendríticas	Se une a IL-18 e induce la activación de NF-κB
CDw218b. 70 kDa. IL-18Rα, IL-18RAP; familia de receptores de IL-1.	Células T, células NK, células dendríticas	Receptor heterodimérico que fomenta la unión a IL18
CD220. 140, 70 kDa. Insulina R.	Expresión amplia	Señalización de insulina
CD221. 140, 70 kDa. IGF-1R.	Expresión amplia	Se une a IGF con alta afinidad; participa en señalización, proliferación celular y diferenciación
CD222. 280 a 300 kDa. Receptor de manosa-6-fosfato (man-6p), IGF2R (receptor de factor 2 de crecimiento tipo insulina).	Fibroblastos, granulocitos, linfocitos, miocitos	Clasifica enzimas lisosómicas recién sintetizadas que portan M6P y las envía a los lisosomas
CD223. 70 kDa. Lag-3 (gen 3 de activación linfocítica); glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Todos los subgrupos de células T o NK activadas	Podría promover el decremento de la señalización de TCR, causando la desactivación celular; participa en el decremento de una reacción específica de antígeno; tal vez ayuda a activar células T CD4$^+$ y CD8$^+$ hasta monocitos y células dendríticas plenamente activados, para optimizar las reacciones de células T mediadas por MHC clase I y clase II
CD224. 100 kDa. GGT (γ-glutamiltranspeptidasa).	Endotelio vascular, macrófagos en sangre periférica, subgrupo de células B; linfocitos, monocitos, granulocitos, células endoteliales y madre	Destoxificación celular, biosíntesis de leucotrieno, inhibición de la apoptosis
CD225. 17 kDa. Leu13, proteína 17 inducida por interferón (IFI17).	Leucocitos, células endoteliales, en múltiples linajes	Interviene en la activación y el desarrollo de linfocitos; podría participar en controlar las interacciones célula-célula
CD226. 65 kDa. DNAM-1, PTA-1 (antígeno 1 de activación de plaquetas y células T).	Células NK, plaquetas, monocitos, subgrupo de células T	Desconocida
CD227. MUC1 (mucina 1), episialina; proteína glucosilada muy grande con pequeña subunidad de 25 kDa y subunidades mayores de 300 a 700 kDa, proteína transmembranal tipo I	Células epiteliales, células dendríticas foliculares, monocitos, subgrupos de linfocitos, células B y madre, algunos mielomas; algunos linajes de células hematopoyéticas	Desconocida
CD228. 80 a 95 kDa. Melanotransferrina.	Células madre, células de melanoma	Adhesión celular
CD229. 100 a 120 kDa. Antígeno de superficie de linfocitos T, Ly-9 (antígeno 9 linfocítico); subgrupo CD2 de la superfamilia de inmunoglobulinas, glucoproteína monocatenaria tipo 1.	De modo predominante en ganglios linfáticos, bazo, timo, leucocitos de sangre periférica	Interviene en la activación de linfocitos
CD230. 30 a 40 kDa. Proteína priónica, p27-30; glucoproteína anclada a GPI.	Se expresa ampliamente en la mayoría de los tipos celulares, y al nivel máximo en neuronas y células dendríticas foliculares; células hematopoyéticas y no hematopoyéticas	Podría inhibir la apoptosis
CD231. 28 a 45 kDa. antígeno 1 relacionado con leucemia linfoblástica aguda de células T (TALLA-1), A15, MXS1, TM4SF2, CCG-B7; miembro de la subfamilia 1 de cuatro pases por membrana; glucoproteína tipo 3 de cuatro pases por membrana.	Expresión intensa en células de leucemia linfoblástica aguda de células T (T-ALL), células de neuroblastoma, neuronas encefálicas normales, células endoteliales	Podría intervenir en la regulación de desarrollo, activación, proliferación y motilidad celulares
CD232. 200 kDa. Receptor de semaforina codificada por virus (VESPR), plexina C1 (PLXNC1); familia de moléculas plexinas (plexina C1).	Células B y NK, monocitos, granulocitos	Función desconocida, aunque es probable que participe en la modulación inmunitaria; interviene en la actividad biológica en monocitos, algunas clases de células dendríticas, neutrófilos y linfocitos B

(continúa)

Antígeno CD. Peso molecular. Sinónimos y propiedades	**Expresión leucocítica**	**Función**
CD233. 95 a 110 kDa. Banda 3, grupo sanguíneo diego; típicamente un dímero.	Eritrocitos y membrana basolateral de algunas células de los túbulos distales y colectores renales	Mantiene la morfología de los eritrocitos
CD234. 35 a 45 kDa. Glucoproteína FY (DARC), grupo sanguíneo Duffy; receptor de quimiocina, glucoproteína Fy ácida tipo 3 de siete pases por membrana.	Eritrocitos, células epiteliales de los túbulos colectores renales, alvéolos pulmonares y tiroides, neuronas (células de Purkinje) encefálicas	Receptor de citocina señuelo; se une a varias citocinas, modula la intensidad de las reacciones inflamatorias
Cd235a, b, ab. 35 kDa (a), 20 kDa (b). Glucoforina A, glucoproteína B.	Eritrocitos	Desconocida
CD236. 23 kDa, 32 kDa. Glucoproteína C/D.	Variedad de células y tejidos de naturaleza eritroide y no eritroide	Desconocida
CD236R. 32 kDa. Glucoforina C/D.	Variedad de células y tejidos de naturaleza eritroide y no eritroide	Desconocida
CD238. 93 kDa. Kell.	Eritrocitos y subgrupo de células madre	Desconocida
CD239. 78 a 85 kDa. B-CAM.	Eritrocitos y subgrupo de células madre	Desconocida
CD240CE. 30 a 32 kDa. Rh30 CE.	Eritrocitos	Desconocida
CD240D. 30 a 32 kDa. Rh30D; superfamilia tipo 1 de dos pases por membrana.	Eritrocitos	Desconocida
CD241. 50 kDa. RhAg, Rh50; superfamilia tipo 1 de dos pases por membrana.	Eritrocitos	Forma un complejo con CD47, LW, glucoforina B; función desconocida
CD242. 42 kDa. ICAM-4; superfamilia de inmunoglobulinas.	Eritrocitos	Adhesión celular
CD243. 170 kDa. Proteína 1 de resistencia a múltiples fármacos (MDR-1), glucoproteína P (P-gp), ABC-B1, P170; glucoproteína monocatenaria tipo 3 de 12 pases por membrana.	Células madre y progenitoras	Influye en la captación, distribución tisular y eliminación de fármacos y toxinas transportados por P-gp; transportador en la barrera hematoencefálica
CD244. 63 a 70 kDa. 2B4, NAIL (ligando inductor de activación de células NK); proteína transmembranal tipo II (TM tipo II), glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Células NK, células T γδ, 50% de las células CD8$^+$, monocitos, basófilos	Activación del receptor de células NK; modula producción de citocinas por células NK, función citolítica y extravasación; participa en las interacciones de células NK y T; podría ser importante para el desarrollo de células T CD4$^+$ funcionales y posiblemente incrementa la adhesión célula-célula
CD245. 220 a 240 kDa. p220/240.	Todos los linfocitos de sangre periférica en reposo	Transducción de señales y coestimulación de células T y NK
CD246. 80 kDa, 200 kDa. Cinasa de linfoma anaplásica (ANK); glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Subgrupo de linfomas de células T	Tirosincinasa de receptor con función desconocida
CD247. 16 kDa. Cadena ζ de CD3.	Células NK durante la timopoyesis y células T maduras en la periferia	Activación de células T
CD248. 175 kDa. TEM1, endosialina; lectina tipo C.	Tejidos endoteliales, fibroblastos estromáticos	Progresión tumoral y angiogénesis
CD249. 160 kDa. Aminopeptidasa A; familia de la peptidasa M1.	Células epiteliales y endoteliales	Sistema de renina-angiotensina; función inmunitaria desconocida
CD252. 34 kDa. OX-40L, gp 34; superfamilia de TNF.	Células B activadas, miocitos cardíacos	Coestimulación de células T
CD253. PM desconocido. TRAIL, Apo.2L, TL2, TNFSF10; superfamilia de TNF.	Células T activadas; se expresa ampliamente en tejidos	Muerte celular

Antígeno CD. Peso molecular. Sinónimos y propiedades	**Expresión leucocítica**	**Función**
CD254. 35 kDa. TRANCE, RANKL, OPGL; superfamilia de TNF.	Estroma de la médula ósea, células T activadas, ganglios linfáticos	Se une a OPG y RANK, diferenciación de osteoclastos, aumenta las células dendríticas para estimular la proliferación de células T vírgenes
CD256. 16 kDa. APRIL, TALL-2; superfamilia de TNF.	Monocitos y macrófagos	Se une a TAC1 y BCMA; participa en la proliferación de células B
CD257. PM desconocido. Blys, BAFF, TALL-1; superfamilia de TNF.	Monocitos activados; existe en forma soluble	Factor de crecimiento de células B; coestimulación de la producción de Ig
CD258. 28 kDa. LIGHT, HVEM-L; superfamilia de TNF.	Células T activadas, células dendríticas inmaduras	Se une a LTβR, interviene en la proliferación de células T; receptor de HVEM
CD261. 57 kDa. TRAIL-R1, DR4; superfamilia de receptores de TNF.	Células T activadas, leucocitos de sangre periférica	Apoptosis mediada por FADD y caspasa 8
CD262. 60 kDa. TRAIL-R2, DR5; superfamilia de receptores de TNF.	Se expresa ampliamente; leucocitos de sangre periférica	Igual que CD261
CD263. 65 kDa. TRAIL-R3, DcR1, LIT; superfamilia de receptores de TNF.	Leucocitos de sangre periférica	Receptor de TRAIL pero carece de dominio de muerte
CD264. 35 kDa. TRAIL-R4, TRUNDO, DcR2; superfamilia de receptores de TNF.	Leucocitos de sangre periférica	Receptor de TRAIL con dominio de muerte truncado
CD265. 97 kDa. RANK, TRANCE-R, ODFR; superfamilia de receptores de TNF.	Amplia	Se une a TRANCE; participa en osteogénesis, interacciones entre células T y dendríticas
CD266. 14 kDa. TWEAK-R, FGF-inducible 14; superfamilia de receptores de TNF.	Subgrupo de células endoteliales, placenta, riñón, corazón	Interacciones de matriz celular, proliferación endotelial y migración; receptor de TWEAK
CD267. PM desconocido. TAC1, TNFR, SF13B.	Células B, células T activadas	Se une a BAFF y APRIL
CD268. 25 kDa. BAFFR, TR13C; superfamilia de receptores de TNF.	Células B	Se une a BLyS; participa en la supervivencia de células B
CD269. 20 kDa. BCMA, TNFRSF13B; superfamilia de receptores de TNF.	Células B maduras	Receptor de APRIL y BAFF; interviene en supervivencia y proliferación de células B
CD271. 45 kDa. NGFR, p75 (NTR); superfamilia de receptores de TNF.	Neuronas, células mesenquimatosas de la médula ósea	Receptor de NGF, NT-3, NT-4; supresor tumoral, supervivencia y muerte celulares
CD272. 33 kDa. BTLA; glucoproteína.	Células T_H1 y células B y T activadas	Receptor inhibidor en linfocitos T que guarda semejanzas con CTLA-4 (CD152) y PD-1 (CD279)
CD273. 25 kDa. B7DC, PDL2, ligando 2 de muerte celular programada 2; glucoproteína.	Células dendríticas, macrófagos, monocitos, células T activadas	Segundo ligando para PD-1 (CD279); esta interacción, como la de PD-L1/PD-1, inhibe la proliferación mediada por TCR y la producción de citocinas
CD274. 40 kDa. B7H1, PDL1, ligando 1 de muerte celular programada 1.	Macrófagos, células epiteliales y dendríticas, células NK, células T activadas y monocitos	Posible ligando para PD-1 (CD279); se ha demostrado que inhibe la proliferación mediada por TCR y la secreción de citocina; participa en la coestimulación y la inhibición de linfocitos
CD275. 40 kDa, 60 kDa. B7H2, ICOSL; ligando de coestimulador inducible de células T (ICOSL).	Macrófagos, células dendríticas, débil en células T y B, monocitos activados	Coestimulación de células T; se informa que promueve la proliferación y la producción de citocinas
CD276. 40 a 45, 110 kDa. B7H3; homólogo 3 de B7.	Células epiteliales, monocitos activados y células T, subgrupos de células dendríticas	Estimula la proliferación de células T y la activación, la proliferación y la producción de IFN-γ
CD277. 56 kDa. BT3.1; familia B7; butirofilina, subfamilia 3, miembro A1.	Células B, células T, células NK, células dendríticas, monocitos, células endoteliales, subgrupos de células madre	Podría participar en la regulación de la inmunorreacción; actúa como un regulador de la activación y la actividad de células T
CD278. 45 a 57 kDa. ICOS; coestimulador inducible de células T.	Células T_H2, subgrupos de timocitos, células T activadas	Es decisivo para coestimular la activación, el desarrollo y la proliferación de células T y la producción de citocina por éstas

(continúa)

Antígeno CD. Peso molecular. Sinónimos y propiedades	**Expresión leucocítica**	**Función**
CD279. 55 kDa. Muerte celular programada 1 (PD1 o PDC1), hPD-1, SLEB2; glucoproteína monocatenaria tipo 1.	Subgrupo de timocitos, células T y B activadas	Inhibe la proliferación y la producción de citocinas mediadas por TCR
CD280. 180 kDa. ENDO180, uPARAP, receptor de manosa, 2 tipo C, TEMM22.	Células progenitoras mieloides, fibroblastos, condrocitos, osteoclastos, osteocitos, subgrupos de células endoteliales y macrófagos	Desconocida
CD281. 90 kDa. TLR1 (receptor tipo Toll 1).	Células dendríticas, queratinocitos, macrófagos, monocitos, neutrófilos; bajo nivel en monocitos	Reconoce patrones moleculares relacionados con patógenos, con especificidad para bacterias grampositivas; se relaciona con la respuesta de TLR2 y la regula
CD282. 87 kDa. TLR2 (receptor tipo Toll 2).	Granulocitos, monocitos, macrófagos, células dendríticas, queratinocitos	Interactúa con lipoproteínas y peptidoglucanos microbianos; respuesta a LPS dependiente e independiente de CD14, vía de NF-κB
CD283. 101 kDa. TLR3 (receptor tipo Toll 3).	Subgrupos de células dendríticas, bajos niveles en fibroblastos, células epiteliales	Interactúa con dsRNA; activa la vía de NF-κB; induce la producción de interferones tipo I; respuesta a poli(I:C) dependiente e independiente de MyD88
CD284. 85, 110, 130 kDa. TLR4 (receptor tipo Toll 4).	Macrófagos y células endoteliales; débil en monocitos, células dendríticas inmaduras y neutrófilos	Interactúa con lipoproteínas microbianas; respuesta a LPS dependiente de CD14, vía de NF-κB
CD285. TLR5 (receptor tipo Toll 5).	Leucocitos	Interactúa con liporpoteínas microbianas, NF-κB, y reacciones a *Salmonella*
CD286. TLR6 (receptor tipo Toll 6).	Leucocitos	Interactúa con lipoproteínas microbianas; regula la respuesta de TLR2
CD287. TLR7 (receptor tipo Toll 7).	Macrófagos, subgrupo de células dendríticas	Interactúa con ácidos nucleicos microbianos; induce IL-12
CD288. TLR8 (receptor tipo Toll 8).	Macrófagos, subgrupo de células dendríticas	Interactúa con ácidos nucleicos microbianos; induce IL-12
CD289. 113 kDa. TLR9 (receptor tipo Toll 9).	Subgrupo de células dendríticas, células B, monocitos	Receptor de DNA bacteriano para CpG; por su remoto parecido con TLR3, podría mediar la interacción proteína-proteína
CD292. 57 kDa. BMPR1A, ALK3; glucoproteína tipo 1.	Progenitoras óseas	Receptor de BMP2 y 4, desarrollo óseo; se desconoce su función inmunitaria
CDw293. 57 kDa. BMPR1B, ALK6; glucoproteína tipo 1.	Progenitoras óseas	Receptor de BMP, desarrollo óseo; se desconoce su función inmunitaria
CD294. 55 a 70 kDa. CRTH2, GPR44; receptor acoplado a proteína G.	Células T_H2, granulocitos	Se une a PGD2; proporciona señales estimulatorias para células T_H2; participa en la inflamación alérgica
CD295. 132 kDa. LeptinR; LEPR; receptor de citocina tipo 1.	Amplia	Metabolismo de adipocitos
CD296. 37 kDa. ART1, RT6, ART2; ribosiltransferasa de ADP.	Células T periféricas, subgrupo de células NK, músculo cardíaco y esquelético	Modifica integrinas durante la diferenciación; ribosilación de ADP de proteínas blanco
CD297. 38 kDa. ART4, grupo sanguíneo dombrock; ribosiltransferasa de ADP.	Eritrocitos, monocitos activados	Ribosilación de ADP de proteínas blanco
CD298. 52 kDa. Subunidad β-3 de la ATPasa de Na^+/K^+.	Amplia	Transporta iones
CD299. 45 kDa. Relacionado con DC-SIGN; LSIGN, DC-SIGN2.	Subgrupo endotelial	Se une a ICAM-3, gp120 de VIH-1; correceptor con DC-SIGN de VIH-1
CD300a. 60 kDa. CMRF35H, IRC1, Irp60.	Monocitos, neutrófilos, subgrupos de células T y B, células de mieloma	Desconocida
CD300c. MCMRF35A, LIR.	Monocitos, neutrófilos, subgrupos de células T y B	Desconocida

Antígeno CD. Peso molecular. Sinónimos y propiedades	**Expresión leucocítica**	**Función**
CD300e. CMRG36L.	Desconocida	Desconocida
CD301. 38 kDa. MGL, HML; superfamilia de la lectina tipo C.	Células dendríticas inmaduras	Se une a antígeno Tn; captación de antígenos glucosilados
CD302. 19 a 28 kDa. DCL1, BIMLEC; receptor transmembranal tipo 1 de lectina tipo C.	Algunas líneas de células mieloides y de Hodgkin	Proteína de fusión en linfoma de Hodgkin con DEC-205; función desconocida
CD303. 38 kDa. BDCA2, HECL; superfamilia de la lectina tipo C.	Células dendríticas plasmacitoides	Inhibe la producción de IFN-α
CD304. 130 kDa. BDCA4, neuropilina 1; familia de la semaforina.	Neuronas, subgrupo de células T, células dendríticas, células endoteliales, células tumorales	Correceptor con plexina, interactúa con VEGF165 y semaforinas; conducción axonal, angiogénesis, supervivencia celular, migración
CD305. 31 kDa, 40 kDa. Receptor 1 tipo Ig relacionado con leucocitos (LAIR), p40; glucoproteína tipo 1.	La expresión en células B se relaciona con la fase de maduración; células NK y T, células dendríticas derivadas de monocitos, timocitos, precursores tímicos	Receptor inhibidor de la actividad celular en células NK, T y B; inhibe la activación celular y la inflamación
CD306. LAIR2.	Desconocida	Forma soluble; participa en la tolerancia de mucosas
CD307. 55 a 105 kDa. IRTA2; superfamilia de inmunoglobulinas, receptor de Fc.	Subgrupo de células B, linfomas de células B	Desarrollo de células B
CD309. 230 kDa. VEGFR2, KDR; tirosincinasa transmembranal tipo III.	Células endoteliales, precursores angiogénicos, hemangioblasto	Se une a VEGF; regula la adhesión celular y la señalización
CD312. 90 kDa. EMR2.	Monocitos, macrófagos, células dendríticas mieloides, baja en granulocitos	Adhesión celular y migración; participa en la fagocitosis
CD314. NKG2D, subfamilia K de receptores tipo lectina de células asesinas; proteína transmembranal tipo II con un dominio tipo lectina tipo C extracelular.	Células NK principalmente; también en macrófagos activados y en células T CD4$^+$ $\alpha\beta$	Induce la activación y la citotoxicidad de células NK
CD315. 135 kDa. CD9P1, SMAP6.	Subgrupos de células B, monocitos activados, células endoteliales y epiteliales, hepatocitos, megacariocitos	Desconocida
CD316. 63 a 78 kDa. IgSF8, KASP.	Células B, células NK, células T	Participa en la migración celular
CD317. 29 a 33 kDa. BST2 (antígeno 2 de células estromales de la médula ósea), HM1.24.	Células B y T, monocitos, células NK y dendríticas, fibroblastos, células plasmáticas y estromales	Desconocida; se cree que interviene en la proliferación de células pre-B
CD318. 135 kDa. CDCP1, SIMA135.	Subgrupo de células madre hematopoyéticas, células tumorales	Adhesión celular con la matriz extracelular
CD319. 37.5 kDa. CRACC, miembro 7 de la familia de SLAM; múltiples isoformas con funciones posiblemente distintas.	Células NK, células B activadas, línea de células NK pero no en líneas de células T o B promielocíticas	Media la activación de células NK a través de una vía extracelular mediada por ERK regulada por señal independiente de SAP; podría participar en la adhesión de linfocitos
CD320. 30 kDa. 8D6A, 8D6. Receptor de LDL.	Células dendríticas foliculares, centros germinales	Proliferación de células B, formación de tumor
CD321. 37 kDa. JAM1, receptor de F11; superfamilia de inmunoglobulinas, tipo 1.	Plaquetas, células epiteliales y endoteliales	Adhesiones, uniones estrechas
CD322. 45 kDa. Molécula 2 de adhesión de unión (JAM-2), VEJAM.	Células endoteliales, células B, monocitos, subgrupos de células T	Adhesión entre células; fundamental en la regulación de la migración transendotelial de leucocitos a órganos secundarios
CD324. 120 kDa. Cadherina E; superfamilia de cadherinas.	Células epiteliales y madre, eritroblastos, queratinocitos, trofoblastos, plaquetas	En fecha reciente se mostró que se une a receptores inhibidores en células NK y T CD8$^+$; supresión tumoral y proliferación, diferenciación y adhesión celulares
CDw325. 140 kDa. Cadherina N, NCAD; superfamilia de cadherinas.	Encéfalo; músculo cardíaco y esquelético	Adhesión celular, reconocimiento neuronal
CD326. 35 a 40 kDa. Ep-CAM, Ly74.	Membranas de la mayoría de las células epiteliales	Desconocida

(continúa)

Antígeno CD. Peso molecular. Sinónimos y propiedades	**Expresión leucocítica**	**Función**
CDw327. 47 kDa (predicho). CD33L, CD33L1, OBBP1, lectina 6 tipo Ig de unión a ácido siálico (Siglec6); proteína de unión a leptina.	Leucocitos, células B	Media el reconocimiento entre células, se une a leptina, posible modulador de las concentraciones de leptina; probablemente inhibidor
CDw328. 49 kDa (predicho). AIRM1, QA79, p75, p75/AIRM1, lectina 7 tipo Ig de unión a ácido siálico (Siglec7).	Variedad de leucocitos además de células T, incluyendo células NK, monocitos y granulocitos	Molécula de adhesión celular; probable función inhibitoria en la activación de células NK y T
CDw329. 48 kDa (predicho). Lectina 9 tipo Ig de unión a ácido siálico (Siglec9), tipo OBBP.	Variedad de leucocitos además de células T, incluyendo células NK, monocitos y granulocitos	Molécula de adhesión celular; probable función inhibitoria en la activación de células NK y T
CD331. 30 kDa. FGFR1, KAL2, N-SAM, tirosincinasa 2 tipo Fms; tisosincinasa transmembranal.	Fibroblastos, células epiteliales	Receptor de alta afinidad para factores de crecimiento de fibroblastos
CD332. 115 a 132 kDa. FGFR3, BEK, KGFR; tirosincinasa transmembranal.	Fibroblastos, células epiteliales	Receptor de alta afinidad para factores de crecimiento de fibroblastos
CD333. 115 kDa. FGFR3, ACH, CEK2; tirosincinasa transmembranal.	Fibroblastos, células epiteliales	Receptor de alta afinidad para factores de crecimiento de fibroblastos
CD334. 110 kDa. FGF4, JTK2, TKF; tirosincinasa transmembranal.	Fibroblastos, células epiteliales	Receptor de alta afinidad para factores de crecimiento de fibroblastos
CD335. 34.5 kDa (predicho). NKp46, NCR1, Ly94, receptor 1 de activación de citotoxicidad natural.	Células NK	Receptor activador de citotoxicidad que podría contribuir a la mayor eficiencia con que las células NK activadas median la lisis de células tumorales
CD336. 30.6 kDa (predicho). NKp44, NCR2, Ly94, receptor 1 de activación de citotoxicidad natural.	Células NK	Receptor activador de citotoxicidad que podría contribuir a la mayor eficiencia con que las células NK activadas median la lisis de células tumorales
CD337. 1.8 kDa (predicho). NKp30, NCR3, Ly117.	Células NK	Receptor activador de citotoxicidad que podría contribuir a la mayor eficiencia con que las células NK activadas median la lisis de células tumorales
CDw338. 73 kDa. ABCDG2, BCRP, Bcrp1, MXR; receptor acoplado a proteína G, siete pasos por membrana.	Subgrupo de células madre	Transportador de resistencia a múltiples fármacos
CD339. 135 kDa. Jagged-1, JAG1, JAGL1, hJ1.	Células estromales, células epiteliales, células de mieloma	Se une a Notch; participa en la hematopoyesis

Apéndice II: Citocinas

Se presentan datos de las principales actividades biológicas y fuentes de muchas citocinas. En la mayor parte de los casos se indica la masa (casi siempre para las citocinas humanas). En algunos casos una citocina determinada puede tener actividades biológicas además de las citadas aquí o puede producirse en sitios adicionales a los mencionados. Esta lista comprende la mayor parte de las citocinas de interés inmunológico. Sin embargo, no se incluyen aquellas que no se identifican como cercanas al sistema inmunitario, como la hormona del crecimiento. Además, con excepción de IL-8, las quimiocinas no se consideran en esta recopilación.

Citocina. Peso molecular. Sinónimos	**Fuentes**	**Actividad**
Interleucina 1 (IL-1). IL-1α 17.5 kDa, IL-1β 17.3 kDa. Factor activador de linfocitos (LAF); factor celular mononuclear (MCF); pirógeno endógeno (EP).	Muchos tipos celulares, entre ellos monocitos, macrófagos, células dendríticas, células T y B, células NK y células ajenas al sistema inmunitario como epitelio vascular, fibroblastos y algunas células del músculo liso	IL-1 presenta una gran variedad de actividades biológicas en muchos tipos celulares diferentes, como células T, células B y monocitos. Los receptores para IL-1 también se encuentran en otros leucocitos, que incluyen eosinófilos y células dendríticas, así como en células no inmunitarias, como fibroblastos, células endoteliales vasculares y algunas células del sistema nervioso. Los efectos in vivo de la IL-1 abarcan inducción de fiebre, reacción de fase aguda y estimulación de la producción de neutrófilos
Interleucina 2 (IL-2). 15 a 20 kDa. Factor de crecimiento de células T (TCGF).	Células T	Estimula el crecimiento y la diferenciación de células T, células B y células NK
Interleucina 3 (IL-3). 15.1 kDa (monómero), 30 kDa (dímero). Factor estimulante del crecimiento de colonias múltiples (M-CSF); factor de crecimiento de células hematopoyéticas (HCGF); factor de crecimiento de mastocitos (MCGF).	Células T activadas, mastocitos y eosinófilos	Factor de crecimiento para células hematopoyéticas y linfocitos; estimula la formación de colonias de neutrófilos, eosinófilos, basófilos, mastocitos, células eritroides, megacariocitos y linajes monocíticos, pero no de linfocitos
Interleucina 4 (IL-4). 15 a 19 kDa. Factor 1 estimulante de células B (BSF-1).	Mastocitos, células T, células estromales de la médula ósea	Promueve el crecimiento y desarrollo de células B y T, y de células del linaje monocítico. También actúa en células fuera del sistema inmunitario, como células endoteliales y fibroblastos
Interleucina 5 (IL-5). 45 kDa. Factor de diferenciación de eosinófilos (EDF), factor estimulante de colonias de eosinófilos (E-CSF).	Mastocitos, células T, eosinófilos	Induce formación y diferenciación de eosinófilos
Interleucina 6 (IL-6). 26 kDa. Factor 2 estimulante de células B (BSF-2), factor de crecimiento de hibridoma/plasmacitoma (HPGF); factor estimulante de hepatocitos (HSF).	Células T, células B, varias células no linfoides como macrófagos, células estromales de la médula ósea, fibroblastos, células endoteliales y astrocitos	Regula las funciones de células B y T; efectos in vivo en la hemopoyesis; induce la reacción de fase aguda
Interleucina 7 (IL-7). 20 a 28 kDa. Factor de crecimiento de células pre-B; linfopoyetina 1 (LP-1).	Células estromales de la médula ósea, células estromales del timo, células del bazo	Factor de crecimiento para progenitoras de células T y B
Interleucina 8 (IL-8). 6 a 8 kDa. Proteína atrayente/activadora de neutrófilos (NAP-1); factor activador de neutrófilos (NAF); proteína quimiotáctica de granulocitos (GCAP).	Muchos tipos celulares como monocitos, linfocitos, granulocitos, y células no inmunitarias como fibroblastos, células endoteliales, hepatocitos y otras	Quimiocina que funciona sobre todo como quimioatrayente y activador de neutrófilos; también atrae basófilos y algunas subpoblaciones de linfocitos; tiene actividad angiógena
Interleucina 9 (IL-9). 32 a 39 kDa. P40; factor III de crecimiento de células T.	Poblaciones de células T cooperadoras activadas por IL-2	Estimula la proliferación de linfocitos T y precursores eritroides

(continúa)

Citocina. Peso molecular. Sinónimos	Fuentes	Actividad
Interleucina 10 (IL-10). 35 a 40 kDa. Factor inhibidor de la síntesis de citocinas (CSIF).	Subgrupos activados de células T CD4$^+$ y CD8$^+$	Estimula o intensifica la proliferación de células B, timocitos y mastocitos. En cooperación con TGF-β, estimula la síntesis y secreción de IgA en las células B; antagonista de la generación del subtipo T_H1 de las células T cooperadoras
Interleucina 11 (IL-11). 23 kDa.	Células estromáticas de la médula ósea y fibroblastos estimulados por IL-1	Factor de crecimiento para plasmacitomas, megacariocitos y células progenitoras de macrófagos
Interleucina 12 (IL-12). Heterodímero que contiene una subunidad p35 de 30 a 33 kDa, subunidad p40 de 35 a 44 kDa. Factor estimulante de células NK (NKSF); factor de maduración de linfocitos citotóxicos (CLMF).	Macrófagos y células dendríticas	Factor importante en la inducción de diferenciación del subgrupo T_H1 de células T cooperadoras. También induce la producción de IFN-γ en células T y células NK, e intensifica la actividad de las células NK
Interleucina 13 (IL-13). 10 kDa.	Células T activadas, mastocitos y células NK	Participa en las respuestas T_H2; incrementa la síntesis de IgE y suprime las reacciones inflamatorias. Participa en la fisiopatología del asma y algunos trastornos alérgicos
Interleucina 14 (IL-14). 60 kDa. Factor de crecimiento de células B de alto peso molecular (HMW-BCGF).	Células T	Intensifica la proliferación de células B; inhibe la síntesis de anticuerpos
Interleucina 15 (IL-15). 14 a 15 kDa.	Muchos tipos celulares, pero sobre todo células dendríticas y células del linaje monocítico	Estimula la proliferación y el desarrollo de células NK y T, y la activación de células NK
Interleucina 16 (IL-16). Homotetrámero 60 kDa; monómero ≈17 kDa. Factor quimiotáctico de linfocitos (LCF).	Células T	Estimula la migración de células T CD4$^+$, monocitos CD4$^+$ y eosinófilos. La unión de IL-16 con CD4 inhibe la infección de las células CD4$^+$ por VIH
Interleucina 17 (IL-17). 28 a 31 kDa. CTLA-8 (antígeno 8 relacionado con linfocitos citotóxicos).	Sobre todo células T CD4$^+$	Apoya la hematopoyesis de manera indirecta por estimulación de la producción de citocinas en células epiteliales, endoteliales y estromales fibroblásticas. Intensifica la expresión de ICAM-1, lo que torna más adhesivas las células
Interleucina 18 (IL-18). 18.2 kDa. Factor inductor de interferón γ (IGIF).	Células del linaje monocítico y células dendríticas	Fomenta la diferenciación de un subgrupo T_H1 de células T cooperadoras; induce la producción de IFN-γ en las células T y aumenta la citotoxicidad de las células NK
Interleucina 19 (IL-19). Homotetrámero 35 a 40 kDa.	Monocitos estimulados por LPS y células B	Miembro de la familia IL-10 de citocinas, induce especies de oxígeno reactivas y citocinas proinflamatorias, lo que al final promueve la apoptosis; se ha demostrado que modifica el balance T_H1/T_H2 al inhibir el IFN-γ y aumentar la producción de IL-4 e IL-13
Interleucina 20 (IL-20). 18 kDa.	Monocitos y queratinocitos	Miembro de la familia IL-10 de citocinas; tiene efectos en los tejidos epidérmicos; como en el caso de IL-19, se ha demostrado que influye en el balance T_H1/T_H2
Interleucina 21 (IL-21). 15 kDa.	Células T activadas	Recién descubierta; intensifica la actividad citotóxica y la producción de IFN-γ en las células NK activadas; fomenta la proliferación, la producción de IFN-γ y la citotoxicidad de las células T CD8$^+$
Interleucina 22 (IL-22). Homodímero. 25 kDa. Factor inducible derivado de células T (TIF).	Principalmente células T CD4$^+$	Miembro de la familia de las citocinas IL-10; se ha demostrado que inhibe la diferenciación epidérmica; induce respuestas de fase aguda, incrementa la proteína 1 relacionada con pancreatitis (PAP1) y la osteopontina; como en el caso de IL-19 e IL-20, se ha demostrado que influye en el balance T_H1/T_H2

Citocina. Peso molecular. Sinónimos	Fuentes	Actividad
Interleucina 23 (IL-23). Heterodímero de subunidades p40 de IL-12 (35 a 40 kDa) y p19 (18.7 kDa).	Células dendríticas activadas	Muchas de las mismas actividades biológicas que IL-12
Interleucina 24 (IL-24). 35 kDa. IL10B; MDA7 (proteína 7 de relación con la diferenciación del melanoma).	Melanocitos, células NK, células B, subgrupos de células T, fibroblastos	Induce la producción de TNF-α e IFN-γ, así como bajas concentraciones de IL-1β, IL-12 y GM-CSF en PBMC humanas; induce propiedades anticancerosas selectivas en las células del carcinoma mamario al promover la apoptosis independiente de p53; miembro de la familia IL-10
Interleucina 25 (IL-25). 18 a 20 kDa. IL-17E; factor de crecimiento derivado del estroma (SF20).	Células estromales de la médula ósea, subgrupos de células T	Miembro nuevo de la familia IL-17; induce la producción de IL-4, IL-5, IL-13 y eotaxina. La introducción in vivo de IL-25 en el pulmón puede ocasionar enfermedad de vías respiratorias que incluye producción de citocina, reorganización tisular, secreción de moco e hiperreactividad de las vías respiratorias
Interleucina 26 (IL-26). Homodímero de 36 kDa. AK155.	Subgrupo de células T y NK	Miembro recién identificado de la familia IL-10; podría tener funciones similares a IL-20
Interleucina 27 (IL-27). Homodímero formado por la subunidad p40 de IL-12 y la subunidad p28.	Producida por células dendríticas, macrófagos, células endoteliales y células plasmáticas	Se ha demostrado que induce la expansión clonal de células T CD4$^+$ vírgenes, promueve de manera sinérgica con IL-12 la producción de IFN-γ en células T CD4$^+$, e induce actividad antitumoral mediada por células T CD8
Interleucina 28 A/B (IL-28A/B). 19.8 kDa. Interferón λ2/3 (IFN-λ2/3).	Células dendríticas derivadas de monocitos	Citocina tipo interferón recién identificada; se coexpresa con IFN-β y participa en la inmunorreacción antivírica; se ha demostrado que induce una mayor concentración de MHC clases I y II
Interleucina 29 (IL-29). Interferón λ1 (IFN-λ1).	Células dendríticas derivadas de monocitos	Funciones similares a las de IL-28A/B
Interleucina 30 (IL-30). p28.	Células presentadoras de antígeno	Subunidad del heterodímero de IL-27; mismas funciones que IL-27
Interleucina 31 (IL-31).	Principalmente células T_H2 activadas; puede inducirse en monocitos activados	Podría participar en el reclutamiento de células polimorfonucleares, monocitos y células T en un sitio de inflamación cutánea
Interleucina 32 (IL-32). NK4.	Células NK activadas y PBMC	Miembro recién identificado de la familia IL-1; citocina proinflamatoria, propiedades mitógenas, induce IFN-α
BAFF (factor activador de células B humanas). 18 kDa. ALL-1 (TNF y ligando 1 expresado en leucocitos relacionado con ligando de apoptosis), BLyS (estimulante de linfocitos B).	Células T, células del linaje monocítico y células dendríticas	Miembro de la familia de TNF, se encuentra en forma soluble y unida a membrana; apoya la proliferación de células B estimuladas por receptor de antígeno; factor de diferenciación y supervivencia de células B inmaduras
Factor estimulante de colonias de granulocitos (G-CSF). 21 kDa.	Células estromales de la médula ósea y macrófagos	Esencial para proliferación y diferenciación de neutrófilos
Factor estimulante de colonias de granulocitos/macrófagos (GM-CSF). 22 kDa.	Células T, macrófagos, fibroblastos y células endoteliales	Factor de crecimiento para las células progenitoras hematopoyéticas y factor de diferenciación para linajes de células granulocíticas y monocíticas
Interferón α (IFN-α). 16 a 27 kDa. Interferón tipo I; interferón leucocítico; interferón de linfoblastos.	Linfocitos, células dendríticas y macrófagos	Induce resistencia a virus e inhibe la proliferación celular; regula la expresión de moléculas MHC clase I en células nucleadas
Interferón β (IFN-β). 20 kDa. Interferón tipo 1, interferón de fibroblastos.	Fibroblastos, células dendríticas y algunas células epiteliales	Induce resistencia a la infección vírica en células blanco; inhibe la proliferación celular y regula la expresión de moléculas MHC clase I

(continúa)

Citocina. Peso molecular. Sinónimos	Fuentes	Actividad
Interferón γ (IFN- γ). Monómero 17.1 kDa; dímero 40 kDa. Interferón tipo 2; interferón inmunitario; factor activador de macrófagos (MAF); interferón de células T.	Células T CD4$^+$ y CD8$^+$, células NK	Influye en activación, proliferación y diferenciación de células T, células B y macrófagos, así como células NK; incrementa la expresión de MHC en células presentadoras de antígeno; es la citocina emblemática de la diferenciación de T$_H$1; débil actividad antivírica y antiproliferativa
Interferón λ (IFN-λ) e interferón λ1. Igual que IL28 y IL29.		
Factor inhibidor de leucemia (LIF). 45 kDa. Factor inhibidor de la diferenciación (DIA); factor retardador de la diferenciación (DRF).	Muchos tipos celulares inclusive células T, células del linaje monocítico, fibroblastos, hígado y corazón	Miembro de la familia IL-6; principal aplicación experimental: conserva los cultivos de células ES en estado indiferenciado para mantener su proliferación; in vivo, combinada con otras citocinas, promueve la hemopoyesis, estimula la respuesta de fase aguda de las células hepáticas, incrementa la resorción ósea, estimula el transporte de glucosa y la resistencia a la insulina, modifica la contractilidad de las vías respiratorias y causa pérdida de grasa corporal
Cardiotrofina 1 (CT-1). 21.5 kDa.	Muchos tipos celulares inclusive células del linaje monocítico y corazón	Miembro de la familia IL-6 que se ha demostrado que estimula la expresión hepática de las proteínas de fase aguda
Factor neurotrófico ciliar (CNTF). 24 kDa. Factor de estimulación de neurotransmisores unido a membrana (MANS).	Células de Schwann y astrocitos	Miembro de la familia IL-6 que induce la expresión de proteínas de fase aguda en el hígado y que se ha demostrado que actúa como pirógeno endógeno y que interviene en la ontogenia; podría promover la supervivencia y la regeneración de nervios
Factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF). Homodímero con enlaces disulfuro de 45 a 90 kDa. Factor 1 estimulante de colonias (CSF-1).	Muchos tipos celulares, incluidos linfocitos, monocitos, fibroblastos, células epiteliales y otras	Factor de crecimiento, diferenciación y supervivencia para progenitoras de macrófagos y macrófagos
Factor inhibidor de macrófagos (MIF). Monómero de 12 kDa con actividad biológica en la forma multimérica.	Pequeñas cantidades en muchos tipos celulares; los principales productores son células T activadas, hepatocitos, monocitos y células epiteliales	Activa los macrófagos e inhibe su migración
Oncostatina M (OSM). 28 a 32 kDa. Onco M; ONC.	Células T activadas, monocitos y macrófagos adhesivos	Muchas funciones, como regulación del crecimiento y diferenciación de células durante hemopoyesis, neurogénesis y osteogénesis; se ha demostrado que fomenta la captación de LDL y estimula la síntesis de proteínas de fase aguda en el hígado
Factor de células madre (SCF). 36 kDa. Ligando de kit (kitL) o factor steel (SLF).	Células estromales de la médula ósea, células de otros órganos como cerebro, riñones, pulmones y placenta	Participa en el desarrollo de linajes hematopoyéticos, gonadales y pigmentarios; tiene actividad tanto en su forma unida a membrana como en la secretada
Trombopoyetina (Tpo). 60 kDa. Factor estimulante de colonias de megacariocitos; factor estimulante de la trombopoyesis (TSF).	Hígado, riñones, músculo esquelético	Factor de diferenciación y crecimiento específico para el linaje de megacariocitos que regula la producción de plaquetas
Factor de crecimiento transformante β (TGF-β). ~25 kDa. Factor inhibidor de la diferenciación.	Muchas células nucleadas y plaquetas	Inhibe la proliferación de varios tipos celulares; afecta la remodelación de tejido, la reparación de heridas, el desarrollo y la hemopoyesis; ejerce efectos supresores en la expansión de ciertas poblaciones de células inmunitarias; factor de cambio para IgA

Citocina. Peso molecular. Sinónimos	Fuentes	Actividad
Factor de necrosis tumoral α (TNF-α). 52 kDa. Caquectina, miembro 2 de la superfamilia de ligandos de TNF (TNFSF2).	Monocitos, macrófagos, otros tipos celulares como células T activadas, neutrófilos y fibroblastos	Mediador potente de funciones inflamatorias e inmunitarias; conocido por regular la proliferación y diferenciación de una gran variedad de tipos celulares; citotóxico para muchos tipos de células transformadas; promueve angiogénesis, resorción ósea y procesos trombóticos; suprime el metabolismo lipógeno
Factor de necrosis tumoral β (TNF-β). 25 kDa. Linfotoxina (LT); citotoxina (CTX); factor inductor de la diferenciación (DIF); miembro 1 de la superfamilia de ligandos de TNF (TNFSF1).	Células T activadas, células B, fibroblastos, astrocitos y células endoteliales y epiteliales	Inhibe los osteoclastos y la proliferación de queratinocitos, antiangiógeno, promueve la proliferación de fibroblastos; induce la diferenciación terminal de monocitos; estimula la producción de especies reactivas de oxígeno por neutrófilos, incrementa la fagocitosis y fomenta la adhesión

Glosario

Abzima. Un anticuerpo monoclonal con actividad catalítica.

Adición de nucleótidos P. Adición de nucleótidos procedentes de asas de horquilla escindidas, formadas por la unión de segmentos génicos V-D o D-J durante los reordenamientos de genes que codifican Ig o TCR.

Adición P. Véase **adición de nucleótidos P.**

Adresinas vasculares. Moléculas de adhesión específicas de tejido que dirigen la extravasación de diferentes poblaciones de linfocitos circulantes a órganos linfoides particulares.

Afinidad. Fuerza con que un ligando interactúa con un sitio de unión. Se representa de manera cuantitativa por la constante de afinidad K_a.

Aglutinación. Agregación de partículas (p. ej., cuentas de látex) o células (p. ej., eritrocitos).

Aglutinina. Sustancia capaz de mediar la agregación de células o partículas. En especial, una hemaglutinina causa agregación de eritrocitos.

Alelo. Dos o más formas alternativas de un gen en un *locus* particular que confieren características alternativas. La presencia de múltiples alelos origina el **polimorfismo.**

Alergia. Reacción de **hipersensibilidad** que puede incluir fiebre, asma, **enfermedad del suero, anafilaxis** sistémica o dermatitis por contacto.

Alógeno. Se refiere a miembros de la misma especie que difieren en el aspecto genético.

Aloinjerto. Trasplante de tejido entre individuos **alógenos.**

Alotipo. Conjunto de **determinantes alotípicos** característicos de sólo algunos miembros de una especie.

Anafilatoxinas. Productos de la división del **complemento** C3a y C5a, que median la **desgranulación** de mastocitos y basófilos, lo que ocasiona la liberación de mediadores que inducen la contracción del músculo liso y aumentan la permeabilidad vascular.

Anafilaxis. Una reacción de hipersensibilidad tipo I inmediata que se desencadena por la **desgranulación** de los mastocitos mediada por IgE. La anafilaxis sistémica conduce al choque y a menudo es letal. La anafilaxis localizada incluye varios tipos de reacciones **atópicas.**

Anergia clonal. Estado fisiológico en el que las células son incapaces de ser activadas por un antígeno.

Anticuerpo. Proteína (inmunoglobulina) que consiste en dos cadenas pesadas idénticas y dos cadenas ligeras idénticas; reconoce un **epítopo** particular en un antígeno y facilita la eliminación de ese antígeno. El anticuerpo unido a la membrana se expresa en las células B que no encontraron un antígeno; el anticuerpo secretado se produce en las **células plasmáticas.** Algunos anticuerpos son múltiplos de la estructura básica de cuatro cadenas.

Anticuerpo biespecífico. Anticuerpo híbrido formado por enlaces cruzados químicos entre dos anticuerpos distintos o por la fusión de hibridomas que producen diferentes anticuerpos monoclonales.

Anticuerpo fluorescente. Anticuerpo con un material **fluorocromático** conjugado con su región Fc que se usa para teñir moléculas de la superficie celular o tejidos; la técnica se conoce como **inmunofluorescencia.**

Anticuerpo humanizado. Anticuerpo que contiene las secuencias de aminoácidos para unión a antígeno de otra especie con el armazón de una secuencia de inmunoglobulina humana.

Anticuerpo incompleto. Anticuerpo que se une al antígeno pero no induce aglutinación.

Anticuerpo monoclonal. Preparado homogéneo de moléculas de anticuerpo producidas por una sola clona de células del linaje B, con frecuencia un hibridoma, todas las cuales tienen la misma especificidad antigénica.

Anticuerpo policlonal. Mezcla de anticuerpos producidos por una variedad de clonas de células B que reconocieron el mismo antígeno. Aunque todos los anticuerpos reaccionan con el antígeno inmunizante, difieren entre sí en la secuencia de aminoácidos.

Anticuerpo quimérico. Véase **quimera.**

Antigenicidad. Capacidad de combinarse de manera específica con anticuerpos o receptor de célula T/MHC.

Antígeno. Cualquier sustancia (casi siempre ajena) que se une de manera específica con un anticuerpo o un receptor en la célula T; a menudo se emplea como sinónimo de **inmunógeno.**

Antígeno carcinoembrionario (CEA). Antígeno oncofetal (que no sólo se encuentra en las células cancerosas sino también en las normales) que puede ser un antígeno relacionado con tumores.

Antígeno de diferenciación. Marcador de la superficie celular que se expresa sólo durante una etapa particular del desarrollo o sólo es expresado por un linaje celular particular.

Antígeno de grupo ABO. Determinantes antigénicos del sistema de grupo sanguíneo definidos por la aglutinación de los eritrocitos expuestos a anticuerpos anti-A y anti-B.

Antígeno dependiente del timo. Proteína soluble que puede inducir la producción de anticuerpos sólo con la ayuda de las células T_H; la respuesta a tales antígenos implica cambio de isotipo, maduración por afinidad y producción de células de memoria.

Antígeno independiente del timo (TI). Las respuestas de las células B a los antígenos independientes del timo no requieren la colaboración de las células T. Hay dos tipos de antígenos TI: casi todos los antígenos TI-1 son activadores policlonales de células B y actúan sin importar la especificidad antigénica de la célula B; los antígenos TI-2 activan las células B por enlaces cruzados abundantes con el receptor mIg e inducen respuestas para antígenos específicos.

Antígeno Rh. Cualquiera de una gran cantidad de antígenos presentes en la superficie de las células sanguíneas que constituyen el grupo sanguíneo Rh. Véase también **eritroblastosis fetal.**

Antígeno tumoral oncofetal. Antígeno que se presenta durante el desarrollo fetal, pero casi nunca se expresa en tejidos, salvo en células tumorales. La fetoproteína α (AFP) y el antígeno carcinoembrionario (CEA) son dos ejemplos que se relacionan con diversos cánceres (cuadro 21-3).

Antígenos de histocompatibilidad. Familia de proteínas que determina la capacidad de un individuo de aceptar injertos tisulares o celulares de otro. Los antígenos mayores de histocompatibilidad, que el *MHC* codifica, participan en la presentación de antígenos.

Antígenos de trasplante específicos de tumor (TSTA). Antígenos exclusivos de las células tumorales.

Antígenos de trasplante relacionados con tumor (TATA). Antígenos que se expresan en tumores específicos o en algunos tipos de tumores que no son exclusivos de las células tumorales. Por lo general están ausentes o se expresan a niveles bajos en la mayor parte de las células adultas normales.

Apoptosis. Cambios morfológicos relacionados con la muerte celular programada; incluyen fragmentación nuclear, formación de vesículas y liberación de cuerpos apoptósicos, que se fagocitan (fig. 2-3). En contraste con la **necrosis,** no causa daño a las células circundantes.

Artritis reumatoide. Trastorno autoinmunitario frecuente que afecta sobre todo a las mujeres entre los 40 y 60 años de edad, y causa inflamación crónica de las articulaciones.

Atenuar. Disminuir la virulencia de un patógeno y hacerlo incapaz de causar una enfermedad. Muchas vacunas son bacterias o virus atenuados que inducen inmunidad protectora sin ocasionar una infección dañina.

Atópico. Referente a las manifestaciones clínicas de hipersensibilidad tipo I (mediada por IgE); incluye rinitis alérgica (fiebre del heno), eccema, asma y varias alergias alimentarias.

Autocrino. Situación en que la célula sobre la que actúa una citocina es la fuente de esa citocina.

Autoinjerto. Tejido trasplantado de una parte del cuerpo a otra del mismo individuo.

Autoinmunidad. Respuesta inmunitaria anormal contra antígenos propios.

Autólogo. Se refiere a las células, tejidos u órganos trasplantados que se obtienen del mismo individuo.

Autotolerancia. Ausencia de respuesta a los antígenos propios.

Avidez. Fuerza de unión antígeno-anticuerpo cuando múltiples epítopos en un antígeno interactúan con múltiples sitios de unión de un anticuerpo. Véase también **afinidad.**

Bacilo de Calmette-Guérin. Véase **BCG.**

Bacteriemia. Infección en la que se encuentran bacterias viables en la sangre.

BALT (tejido linfoide relacionado con bronquios). Véase **MALT.**

Basófilo. Granulocito no fagocítico que expresa receptores Fc para IgE (fig. 2-9). El enlace cruzado de la IgE unida mediado por el antígeno induce **desgranulación** de los basófilos.

Bazo. Órgano linfoide secundario en el que los eritrocitos viejos se destruyen y los antígenos transportados en la sangre se capturan para presentarlos a los linfocitos de la vaina linfoide periarteriolar y la zona marginal (fig. 2-17).

BCG (bacilo de Calmette-Guérin). Forma atenuada de *Mycobacterium tuberculosis* que se usa como vacuna específica y como un componente coadyuvante.

Benigno. Referente a una forma no maligna de alguna neoplasia o una forma leve de una enfermedad.

Biblioteca de exhibición de fagos. Conjunto de bacteriófagos manipulados para que expresen dominios V_H y V_L específicos en su superficie (fig. 5-23).

Bradicinina. Péptido endógeno que produce una respuesta inflamatoria.

Cadena κ. Uno de los dos tipos de cadenas ligeras. λ es el otro tipo.

Cadena λ. Uno de los dos tipos de cadenas ligeras. κ es el otro tipo.

Cadena invariante (Ii). Componente de la proteína MHC clase II que no muestra polimorfismo genético. La cadena Ii estabiliza la molécula clase II antes que adquiera un péptido antigénico.

Cadena J (de unión, *joining* en inglés). Polipéptido que une las cadenas pesadas de las unidades monoméricas de la IgM polimérica y la IgA dimérica o trimérica. El vínculo se establece mediante enlaces disulfuro entre la cadena J y las cisteínas carboxilo terminales de las cadenas pesadas de IgM o IgA.

Cadena ligera sustituta. Polipéptidos *Vpre-B* y *λ5* que se relacionan con las cadenas pesadas μ durante la etapa de célula pre-B y el desarrollo de células B para formar el receptor de célula pre-B.

Cadena pesada (H). Polipéptido más grande de una molécula de anticuerpo; se compone de un dominio variable V_H y tres o cuatro dominios constantes (C_H1, C_H2, etc.). Hay cinco clases principales de cadenas pesadas en el ser humano (α, γ, δ, ε y μ), las cuales determinan el **isotipo** de un anticuerpo (cuadro 4-3).

Cadenas ligeras (L). Polipéptidos de las inmunoglobulinas de tipo λ o κ que se unen con los polipéptidos de las cadenas pesadas para formar el heterodímero del anticuerpo.

Cambio antigénico. Aparición súbita de un nuevo subtipo de patógeno, tal vez por redistribución genética que ocasionó diferencias antigénicas sustanciales.

Cambio de clase (isotipo). Cambio de la clase de anticuerpo que una célula B produce.

Cambio de isotipo. Conversión de una clase de anticuerpo (**isotipo**) en otro como resultado del reordenamiento de los genes de la región constante de la cadena pesada de las células B, también llamado *cambio de clase*.

Carcinoma. Tumor que surge de tejidos endodérmicos o ectodérmicos (p. ej., piel o epitelio). La mayor parte de los cánceres (>80%) son carcinomas.

Carga vírica. Concentración plasmática de virus; suele informarse como número de copias del genoma vírico por unidad de volumen de plasma.

Cariotipo. Constitución cromosómica de una célula determinada.

Caspasa. Familia de proteasas de cisteína que se escinden después de un residuo de aspartato. El término **caspasa** incorpora estos elementos (*c*isteína, *asp*artato, prote*asa*), que tienen funciones importantes en la cadena de reacciones que conduce a la **apoptosis.**

CD3. Complejo polipeptídico que contiene tres dímeros; un heterodímero γε, un heterodímero εδ y un homodímero ξξ o un heterodímero ξη (fig. 9-9). Se relaciona con el receptor de células T y funciona en la transducción de señales.

CD4. Glucoproteína que sirve como correceptor en las células T restringidas a MHC clase II. La mayor parte de las células T cooperadoras son $CD4^+$.

$CD4^+$ unipositivo. Timocito que expresa un correceptor CD4.

CD8. Proteína dimérica que sirve como correceptor en las células T restringidas a MHC clase I. La mayor parte de las células T citotóxicas son $CD8^+$.

$CD8^+$ unipositivo. Timocito que expresa un correceptor CD8.

Célula asesina natural (NK). Una clase de linfocitos citotóxicos granulares grandes que no tienen receptores de células T ni B. Son destructoras de células tumorales independientes de los anticuerpos y también participan en la **citotoxicidad celular dependiente de anticuerpos.**

Célula B. Véase **linfocito B.**

Célula B de memoria. Célula B persistente comprometida con antígeno. La diferenciación de los linfocitos B da por resultado la formación de células plasmáticas, que secretan anticuerpo, y células de memoria, que participan en las **respuestas secundarias.**

Célula de Kupffer. Un tipo de macrófago tisular que se encuentra en el hígado.

Célula de memoria. Linfocito de vida prolongada que se genera después de encuentros con antígeno; se estimula con más facilidad que los linfocitos vírgenes y media una **reacción inmunitaria secundaria** en encuentros ulteriores con el antígeno.

Célula de mieloma. Célula plasmática cancerosa.

Célula dendrítica. Célula derivada de la médula ósea que evoluciona a partir de las líneas mieloide y linfoide, y que está especializada en la presentación de antígenos a las células T colaboradoras.

Célula dendrítica folicular. Célula con extensiones dendríticas extensas que se encuentra en los folículos de los ganglios linfáticos. Aunque no expresa moléculas MHC clase II, tiene abundancia de receptores para el complemento y receptores Fc para anticuerpos. Pertenece a un linaje distinto a las células dendríticas que tienen MHC clase II.

Célula doblemente negativa (DN). Miembro de un subgrupo de células T en desarrollo (timocitos) que no expresan CD4 ni CD8. En esta etapa temprana del desarrollo de las células T, las células DN no expresan el receptor de la células T (TCR).

Célula doblemente positiva (DP). Miembro de un subgrupo de células T en desarrollo (timocitos) que expresan tanto CD4 como CD8. Las células DP representan una etapa intermedia de los timocitos en desarrollo que expresan TCR.

Célula efectora. Cualquier célula capaz de mediar una función inmunitaria (p. ej., células T_H activadas, linfocitos T citotóxicos (CTL) y células plasmáticas).

Célula estromal. Célula no hematopoyética que sostiene el crecimiento y la diferenciación de las células hematopoyéticas.

Célula germinal mieloide. Célula que puede dar origen a muchos tipos de células mieloides.

Célula M. Célula especializada de la mucosa intestinal y otros sitios, como las vías urinarias, que transfiere antígenos de la cara apical de la célula a los linfocitos aglomerados en el saco de su cara basolateral.

Célula madre. Célula de la cual derivan células diferenciadas. Las células madre se clasifican en totipotentes, pluripotentes, multipotentes o unipotentes dependiendo de la gama de tipos celulares que pueden generar. Véase el enfoque clínico del capítulo 2.

Célula madre embrionaria (célula ES). Célula madre aislada del embrión incipiente y cultivada. Las células ES murinas dan origen a una variedad de tipos celulares y se emplean para desarrollar cepas de ratones transgénicos o con alteración génica.

Célula madre hematopoyética. Tipo celular del que se derivan todos los linajes de células sanguíneas.

Célula mesangial. Tipo de macrófago que se encuentra en los riñones.

Célula microglial. Tipo de macrófago que se encuentra en el sistema nervioso central.

Célula plasmática. Célula efectora secretora de anticuerpos del linaje B.

Célula precursora B (célula pre-B). Etapa del desarrollo de la célula B que sigue a la etapa de célula pro-B. Las células pre-B producen cadenas pesadas μ citoplásmicas y la mayor parte presentan el receptor de célula pre-B.

Célula presentadora de antígeno (APC). Cualquier célula que pueda procesar y presentar péptidos antigénicos relacionados con **moléculas MHC clase II** y que emita una **señal coestimuladora** necesaria para la activación de las células T. Los macrófagos, las células dendríticas y las células B constituyen las APC profesionales. Las APC no profesionales, que funcionan en la presentación de antígenos sólo por períodos cortos, incluyen las células epiteliales del timo y las células endoteliales vasculares.

Célula progenitora. Célula que perdió la capacidad de renovarse a sí misma y está destinada a la generación de un linaje celular particular.

Célula progenitora B (célula pro-B). Célula distintiva más temprana del linaje celular B.

Célula progenitora linfoide. Célula destinada al linaje linfoide a partir de la cual surgen todos los linfocitos.

Célula T. Véase **linfocito T.**

Célula T asesina natural 1 (NK1-T). Linfocito con algunas de las características de las células T (tiene receptores de célula T) y también de las células NK.

Célula T citotóxica (T_C). Célula T que destruye células blanco de manera específica según el antígeno.

Célula T colaboradora (T_H). Célula T que es estimulada por un antígeno para producir señales que fomentan las inmunorreacciones.

Célula T reguladora (T_{reg}). Tipo de linfocito T que porta CD4 en su superficie y se distingue de las células T_H por sus marcadores de superficie, como CD25, relacionados con su fase de activación.

Centro germinal. Región dentro de los ganglios linfáticos y el bazo donde ocurren la activación, la proliferación y la diferenciación de las células B (fig. 11-20). Los centros germinales son sitios de intensas mutación somática y selección de células B.

Ciclosporina A. Producto antimicótico que se emplea como fármaco para suprimir el rechazo de aloinjertos. Bloquea la activación de las células T porque interfiere con los factores de transcripción e impide la activación del gen.

Cilios. Proyecciones similares a pelos en las células epiteliales de los sistemas respiratorio y digestivo; los cilios funcionan para impulsar los microorganismos fuera del sistema.

Citocina. Cualquiera de las numerosas proteínas de bajo peso molecular secretadas que regulan la intensidad y la duración de la respuesta inmunitaria mediante diversos efectos en los linfocitos y otras células inmunitarias (véase apéndice II).

Citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo (ADCC). Una reacción mediada por células en que las células citotóxicas inespecíficas que expresan **receptores Fc** (p. ej., células NK, neutrófilos, macrófagos) reconocen el anticuerpo unido a una célula blanco y luego causan lisis de esta última.

Clona. Células que provienen de una sola célula progenitora.

Coadyuvante completo de Freund (CFA). Emulsión de aceite en agua a la que se agregaron micobacterias muertas por calor; se administran antígenos en CFA para intensificar su inmunogenicidad.

Coadyuvante incompleto de Freund. Coadyuvante de Freund que carece de micobacterias muertas por calor.

Coágulo. Masa coagulada; casi siempre se refiere a la sangre coagulada, en que la conversión del fibrinógeno en el plasma hasta fibrina produjo una sustancia con consistencia gelatinosa que contiene eritrocitos atrapados.

Colectinas. Moléculas que tienen cualidades tensoactivas y pueden destruir las paredes de las células bacterianas.

Complejo antígeno leucocítico humano (HLA). Término para el MHC en el ser humano.

Complejo de ataque a membrana. El complejo de componentes del complemento C5-C9 que se forma en los pasos terminales de la vía clásica o alterna del complemento y media la lisis celular al crear un poro de membrana en la célula blanco.

Complejo H-2. Término para el **MHC** en el ratón.

Complejo mayor de histocompatibilidad (MHC). Complejo de genes que codifican las moléculas de la superficie celular y que son necesarios tanto para la presentación de antígenos a las células T como para el rechazo rápido de injertos. Se denomina complejo H-2 en el ratón y complejo HLA en el ser humano.

Complemento. Grupo de proteínas séricas y de la membrana celular que interactúan entre sí y con otras moléculas de la inmunidad innata y la adaptativa para realizar funciones efectoras decisivas.

Componente secretor. Fragmento del **receptor poli-Ig** que permanece unido a la inmunoglobulina después de la transcitosis a través de un epitelio y de la escisión.

Comprometida antigénicamente. Estado de una célula B madura que presenta un anticuerpo de superficie específico para un solo inmunógeno.

Conducto torácico. El más grande de los vasos linfáticos. Reintegra la linfa a la circulación al vaciarse en la vena subclavia izquierda, cerca del corazón.

Congénicos. Se refiere a los individuos con diferencias genéticas en un solo locus o región genética; también se denominan *coisógenos*.

Conjugado hapteno-portador. Combinación covalente de una molécula pequeña con una molécula o estructura portadora grande.

Constante de afinidad. Cociente de la constante de velocidad hacia la derecha (k_1) entre la constante de velocidad hacia la izquierda (k_{-1}) en una reacción de anticuerpo contra antígeno. Equivalente a la constante de asociación en bioquímica ($K_a = k_1/k_{-1}$).

Constante de asociación. Véase **constante de afinidad.**

Constante de disociación. K_d, el recíproco de la constante de afinidad ($1/K_a$).

Conversión génica. Proceso en el cual partes de un gen (el receptor) son cambiadas por las de otro gen (el donante). La conversión de genes homólogos es un mecanismo de diversificación empleado para los genes V de la inmunoglobulina en algunas especies.

Correceptor de célula B. Complejo de tres proteínas (CR2, CD19 y TAPA-1) relacionado con el receptor de la célula B. Se cree que amplifica la señal activadora inducida por el enlace cruzado del receptor.

Corteza. La capa externa o periférica de un órgano.

Deficiencia de adhesión leucocítica (LAD). Enfermedad hereditaria en la que los leucocitos son incapaces de realizar la migración dependiente de la adhesión hacia sitios de inflamación. Las características de la enfermedad son infecciones bacterianas recurrentes y deficiencia en la cicatrización de heridas.

Deleción (supresión) clonal. Muerte inducida de miembros de una clona de linfocitos con receptores no apropiados (p. ej., los que reaccionan intensamente con las células propias durante el desarrollo).

Deriva antigénica. Serie de mutaciones puntiformes espontáneas que generan variaciones antigénicas menores en los agentes patógenos y que conducen a diferencias entre cepas.

Dermis. Capa de piel bajo la epidermis que contiene vasos sanguíneos y linfáticos, folículos pilosos, nervios y terminaciones nerviosas.

Desgranulación. Liberación del contenido de los gránulos citoplásmicos en los **basófilos** y los **mastocitos** después de la formación de enlaces cruzados (casi siempre por un antígeno) de la IgE unida. Es una característica de la **hipersensibilidad** tipo I.

Determinante alotípico. Determinante antigénico que varía entre los miembros de una especie. Las regiones constantes de los anticuerpos tienen determinantes alotípicos.

Determinante antigénico. El sitio de un antígeno que se reconoce y al que se une un anticuerpo particular, complejo TCR-péptido-MHC o complejo TCR-ligando-CD1; también llamado **epítopo.**

Determinante de conformación. Epítopo de una proteína que se compone de aminoácidos que se encuentran cercanos en la estructura tridimensional de la proteína, pero no están cerca unos de otros en la secuencia de aminoácidos.

Determinante isotípico. **Determinante antigénico** dentro de las regiones constantes de inmunoglobulina característico de una especie.

Determinante menor estimulante de linfocitos (MI). Determinante antigénico codificado por retrovirus endógenos de la familia de virus de tumor mamario murino que se presenta en la superficie de ciertas células.

Diabetes tipo 1. Enfermedad autoinmunitaria ocasionada por el ataque autoinmunitario al páncreas dirigido contra las células especializadas productoras de insulina, llamadas islotes de Langerhans, que están diseminadas por todo el páncreas.

Diálisis de equilibrio. Técnica experimental que puede usarse para determinar la afinidad de un anticuerpo por un antígeno y su **valencia** (fig. 6-2).

Direccionamiento. Migración diferencial de los linfocitos u otros leucocitos hacia tejidos u órganos particulares.

Doble inmunodifusión. Tipo de precipitación en el análisis en gel en el que tanto el antígeno como el anticuerpo se difunden en sentido radial desde pozos para aproximarse entre ellos, con lo que se establece un gradiente de concentración. Conforme se alcanza la equivalencia, se forma una línea visible de precipitación, una línea de precipitina.

E2A. Factor de transcripción necesario para la expresión de los genes activadores de recombinación (RAG), así como para la expresión del componente λ5 del receptor de células pre-B durante el desarrollo de las células B. Es indispensable para este desarrollo.

Ecuación de Scatchard. La ecuación $(r/c) = K_a n - K_a r$, donde r es el cociente de la concentración de ligando unido entre la concentración total de anticuerpo, c es la concentración del ligando libre y n es el número de sitios de unión por molécula de anticuerpo, permite calcular las constantes de afinidad del antígeno por el anticuerpo.

Edema. Acumulación anormal de líquido en los espacios intercelulares; a menudo se debe a fallo del sistema linfático para drenar la fuga normal de los capilares.

Edición de receptor. Proceso por el cual la secuencia del receptor de célula T o B se altera para reducir la afinidad por autoantígenos.

Efecto de portador. Una **respuesta inmunitaria secundaria** a un hapteno que depende del uso tanto del **hapteno** como del **portador** en la inmunización inicial.

Efecto prozona. Descenso aparente en la reacción antígeno-anticuerpo que se observa a veces cuando la concentración de antígeno o anticuerpo aumenta.

Electroforesis en cohete. Electroforesis de una muestra de antígeno con carga negativa en un gel que contiene anticuerpo. El precipitado que se forma entre el antígeno y el anticuerpo tiene la forma de un cohete, cuya altura es proporcional a la concentración de antígeno en la muestra.

Electroforesis en dodecilsulfato sódico y gel de poliacrilamida (SDS-PAGE). Método electroforético para la separación de proteínas. Emplea SDS para desnaturalizar proteínas e impartirles cargas negativas; cuando las proteínas desnaturalizadas se someten a la electroforesis en gel de acrilamida polimerizada, se separan según su peso molecular.

ELISA. Véase **ensayo de inmunosorbente ligado a enzima.**

Endocitosis. Proceso por el que las células ingieren macromoléculas extracelulares al rodearlas en una pequeña porción de membrana plasmática, la cual se invagina y se separa para formar una vesícula intracelular que contiene el material ingerido.

Endocrino. Se refiere a las secreciones reguladoras, como hormonas o citocinas, que pasan de la célula productora a la célula blanco por la corriente sanguínea.

Endotelio venular alto. Área de una vénula capilar compuesta por células especializadas con forma cuboidea, regordeta ("alta") a través de la cual migran los linfocitos para entrar en los distintos órganos linfoides (fig. 13-7).

Endotoxinas. Ciertos componentes lipopolisacáridos de la pared celular de las bacterias gramnegativas que causan muchos de los efectos patógenos relacionados con estos microorganismos. Algunas funcionan como **superantígenos.**

Enfermedad de Graves. Trastorno autoinmunitario en el que el individuo produce autoanticuerpos contra el receptor para la hormona estimulante del tiroides.

Enfermedad de injerto contra hospedador. Una reacción que se desarrolla cuando un injerto contiene células T inmunocompetentes que reconocen y atacan las células del receptor.

Enfermedad del suero. Un tipo de reacción de hipersensibilidad tipo III que se desarrolla cuando se administra un antígeno por vía intravenosa, lo que conduce a la formación de grandes cantidades de complejos antígeno-anticuerpo y su depósito en los tejidos. A menudo se desarrolla cuando los individuos son inmunizados con el antisuero proveniente de otra especie.

Enfermedad granulomatosa crónica. Inmunodeficiencia causada por un defecto en la enzima oxidasa fagosómica de NADPH, que da por resultado incapacidad de generar especies reactivas de oxígeno en los neutrófilos.

Ensayo de inmunosorbente ligado a enzima (ELISA). Prueba para cuantificar un anticuerpo o antígeno mediante el uso de un anticuerpo ligado a una enzima y un sustrato que forma un producto de reacción de color.

Eosinófilo. Granulocito móvil con cierta función fagocítica que puede migrar de la sangre a los espacios tisulares. Tiene grandes cantidades de receptores para IgE y muchos gránulos. Se cree que participa en la defensa contra parásitos como los nematodos (fig. 2-9).

Epidermis. Capa más externa de la piel.

Epítopo. Porción de un antígeno a la que reconoce y se une un anticuerpo o combinación TCR/MHC: también se llama **determinante antigénico.**

Epítopos no secuenciales. Epítopos que están muy separados de la secuencia primaria de la cadena polipeptídica, pero cercanos entre sí en la estructura terciaria de la molécula.

Epítopos secuenciales. Dos o más determinantes antigénicos formados por una sola secuencia de aminoácidos.

Eritroblastosis fetal. Reacción de hipersensibilidad tipo II en que los anticuerpos maternos contra los **antígenos Rh** fetales causan hemólisis de los eritrocitos del recién nacido; también se llama *enfermedad hemolítica del recién nacido*.

Esclerosis múltiple (MS). Enfermedad autoinmunitaria que afecta el sistema nervioso central. En los países occidentales es la causa más frecuente de discapacidad neurológica por enfermedad.

Especificidad antigénica. Capacidad del anticuerpo y el receptor de las células T de reconocer e interactuar con un solo **determinante antigénico** o **epítopo** único.

Esquistosomosis. Enfermedad causada por el gusano parásito *Schistosoma*.

Estreptavidina. Proteína bacteriana que se une a la biotina con muy alta afinidad. Se usa en pruebas inmunológicas para detectar anticuerpos que se marcaron con biotina.

Exclusión alélica. Un proceso que permite la expresión de sólo una de las formas alélicas de un gen. Por ejemplo, una célula B expresa sólo un alelo para una cadena pesada y un alelo para una cadena ligera (fig. 5-11).

Exocitosis. Proceso por el que las células liberan moléculas (p. ej., citocinas, enzimas líticas, productos de degradación) contenidas dentro de una vesícula limitada por una membrana mediante la fusión de ésta con la membrana plasmática (fig. 2-8).

Exotoxinas. Proteínas tóxicas secretadas por bacterias grampositivas y gramnegativas; algunas funcionan como **superantígenos**. Causan intoxicación alimentaria, síndrome de choque tóxico y otras enfermedades. Véase también **inmunotoxina.**

Explosión respiratoria. Proceso metabólico que ocurre en los fagocitos activados; en él, la captación rápida de oxígeno se usa para producir intermediarios reactivos de oxígeno, que son tóxicos para los microorganismos ingeridos.

Extravasación. Movimiento de células sanguíneas a través de una pared vascular rota hacia el tejido circundante, sobre todo en sitios de inflamación.

Factor quimiotáctico. Agente que puede hacer que los leucocitos se muevan contra su gradiente de concentración.

Factor reumatoide. Autoanticuerpo presente en el suero de personas con artritis reumatoide y otras enfermedades del tejido conectivo.

Factor temprano de célula B (EBF). Factor de transcripción esencial para el desarrollo temprano de la célula B. Es necesario para la expresión de los genes activadores de la recombinasa.

Fagocito. Célula con la capacidad de interiorizar y degradar microorganismos o partículas antigénicas; los neutrófilos y los monocitos son los principales fagocitos.

Fagocitosis. Captación de partículas al ser rodeadas por una célula.

Fagolisosoma. Cuerpo intracelular que se forma por la fusión de un fagosoma con un lisosoma.

Fagosoma. Vacuola intracelular que contiene partículas ingeridas; se forma por la fusión de los seudópodos alrededor de una partícula que experimenta **fagocitosis.**

Fetoproteína α. Véase **antígeno tumoral oncofetal.**

Fibrina. Proteína filamentosa producida por la acción de la trombina sobre el fibrinógeno; la fibrina es el elemento principal de la coagulación sanguínea.

Fibrinopéptido. Uno de dos pequeños péptidos de unos 20 aminoácidos que se liberan del fibrinógeno por escisión de la trombina durante la conversión en fibrina.

Fibrosis. Proceso por el que se forma un tipo de tejido cicatrizal en un sitio con inflamación crónica.

Flexibilidad de unión. Diversidad de los genes de anticuerpo y de receptor de célula T creada por la unión imprecisa de secuencias codificadoras durante el ensamblaje de los genes reordenados.

Fluorocromo. Molécula que emite fluorescencia cuando se le excita con luz de la longitud de onda adecuada. Véase **inmunofluorescencia.**

Folículo primario. Folículo linfoide, antes de la estimulación por un antígeno, que contiene una red de células dendríticas foliculares y pequeñas células B en reposo.

Folículo secundario. **Folículo primario** después de la estimulación antigénica; se transforma en un anillo de células B aglomeradas en forma concéntrica alrededor de un centro germinal.

Fracción gammaglobulínica. Fracción electroforética del suero que contiene la mayor parte de las clases de inmunoglobulina.

Fragmentina. Enzimas presentes en los gránulos de los linfocitos citotóxicos que inducen la fragmentación del DNA.

Fragmento Fab (del inglés "*fragment antigen binding*"). Fragmento monovalente para unión con antígeno de una molécula de inmunoglobulina que consiste en una cadena ligera y parte de una cadena pesada, unidas por un enlace disulfuro. Se obtiene mediante la digestión breve con papaína.

Fragmento F(ab′)$_2$. Dos unidades Fab unidas por puentes disulfuro entre los fragmentos de la cadena pesada. Se obtienen por digestión del anticuerpo con pepsina.

Fragmento Fc (del inglés "*fragment crystallizable*"). Fragmento cristalizable de una molécula de inmunoglobulina que no se une con antígenos y consiste en las porciones terminales carboxilo de ambas cadenas pesadas; tiene sitios de unión para receptores Fc y el componente C1q del complemento. Se obtiene por digestión breve con papaína (fig. 4-3).

GALT. Tejido linfoide relacionado con intestino. Véase **MALT.**

Ganglio linfático. Pequeño **órgano linfoide secundario** que contiene linfocitos, macrófagos y células dendríticas; sirve como sitio para la filtración de antígenos extraños y para la activación y proliferación de linfocitos (figs. 2-5 y 2-16). Véase también **centro germinal.**

Gen GATA-2. Un gen que codifica un factor de transcripción esencial para el desarrollo de varios linajes celulares hematopoyéticos, inclusive los linajes linfoide, eritroide y mieloide.

Gen Pax-5. Gen que codifica la proteína activadora específica de células B (BSAP), un factor de transcripción esencial para el desarrollo de las células B.

Genes activadores de recombinación (RAG). Dos genes vinculados, **RAG-1** y **RAG-2**, que codifican proteínas esenciales para el reordenamiento de los segmentos génicos de inmunoglobulinas en el ensamblaje de un gen de inmunoglobulina funcional.

Genes supresores tumorales. Genes que codifican productos que inhiben la proliferación celular excesiva.

Genotipo. Material genético combinado que se hereda de ambos padres; también, los **alelos** presentes en uno o más loci específicos.

Granulocito. Cualquier **leucocito** que contiene gránulos citoplásmicos, sobre todo los basófilos, eosinófilos y neutrófilos (fig. 2-9).

Granuloma. Masa o nódulo similar a un tumor que se origina por la **respuesta inflamatoria** crónica y contiene muchos macrófagos activados, células epitelioides (macrófagos modificados), células T_H y células gigantes multinucleadas formadas por la fusión de los macrófagos.

Granzima. Una de las enzimas que se encuentran en los gránulos de las células T_C y que ayudan a iniciar la apoptosis de las células blanco.

Grupo de diferenciación (CD). Colección de anticuerpos monoclonales que reconocen un antígeno que se encuentra en uno o varios tipos celulares diferenciados específicos. Cada uno de los antígenos que este conjunto de anticuerpos reconoce se denomina marcador CD y se le asigna un número de identificación único.

Haplotipo. Conjunto de **alelos** de genes vinculados presentes en un cromosoma de uno de los padres; a menudo se usa en referencia a los genes **MHC.**

Hapteno. Molécula de bajo peso molecular que puede volverse inmunógena por conjugación con el portador adecuado.

Hemaglutinina. Véase **aglutinina.**

Hematopoyesis. Formación y diferenciación de los eritrocitos (fig. 2-2).

Hemólisis. Alteración o destrucción de eritrocitos que libera hemoglobina.

Heteroconjugados. Híbridos de dos moléculas de anticuerpos distintas.

Hibridoma. Una **clona** de células híbridas formada por la fusión de los linfocitos normales con células de **mieloma**; conserva las propiedades de la célula normal de producir anticuerpos o receptores de célula T, pero muestra el crecimiento inmortal característico de las células de mieloma. Los hibridomas se usan para producir **anticuerpo monoclonal.**

Hipermutación somática. Aumento inducido de la mutación, 10^3 a 10^6 veces más que la velocidad basal, en los genes reordenados de inmunoglobulinas y en las regiones circundantes. En animales como el ser humano y el ratón, la hipermutación somática ocurre en los centros germinales.

Hipersensibilidad. Respuesta inmunitaria exagerada que causa daño al individuo. La hipersensibilidad inmediata (tipos I, II y III) es mediada por anticuerpos o inmunocomplejos, y la hipersensibilidad tardía (tipo IV) es mediada por células T_H.

Hipersensibilidad inmediata. Inmunorreacción exagerada mediada por anticuerpo (tipo I y II) o complejos antígeno-anticuerpo (tipo III) que se manifiesta minutos a horas después de la exposición de un individuo sensibilizado al antígeno (cuadro 15-1).

Hipersensibilidad tardía. Respuesta de hipersensibilidad tipo IV mediada por células T_H sensibilizadas, las cuales liberan numerosas **citocinas** y **quimiocinas** (fig. 15-17). La respuesta suele ocurrir dos o tres días después que las células T_H interactúan con el antígeno. Es parte importante de la defensa del hospedador contra los parásitos y las bacterias intracelulares.

Histiocito. Macrófago inmovilizado (a veces llamado "fijo al tejido") que se encuentra en el tejido conectivo laxo.

Histocompatible. Denota a los individuos cuyos antígenos de histocompatibilidad mayor son idénticos. Por lo general los injertos entre tales individuos se aceptan.

Humoral. Perteneciente al líquido extracelular; incluye el plasma, la linfa y los líquidos tisulares.

Idiotipo. Conjunto de determinantes antigénicos (**idiotopos**) que caracteriza a un anticuerpo o receptor de célula T único.

Idiotopo. Un solo **determinante antigénico** en los dominios variables de un anticuerpo o receptor de célula T; también se llama *determinante idiotípico*. Los idiotopos son generados por la secuencia de aminoácidos única específica para cada antígeno.

IgA secretoria. Dímeros o polímeros mayores de IgA unidos con la cadena J que pasaron por el epitelio y conservan unido un remanente del **receptor poli-Ig.**

Ikaros (Ícaro). Un factor de transcripción necesario para el desarrollo de todos los linajes de células linfoides.

Infecciones oportunistas. Infecciones causadas por microorganismos ubicuos en casos de inmunodeficiencia.

Inflamado. Que presenta enrojecimiento, dolor, calor e inflamación.

Inhibición de la aglutinación. Decremento de la aglomeración de partículas mediada por anticuerpo con la adición de las formas solubles del epítopo reconocido por el anticuerpo de aglutinación.

Inmunidad activa. Inmunidad adaptativa que se induce por la exposición natural a un patógeno o por **vacunación.**

Inmunidad adaptativa. Defensas del hospedador que están mediadas por células B y T después de la exposición al antígeno y que tienen especificidad, diversidad, memoria y reconocimiento de lo propio y lo ajeno. Véase también **inmunidad innata.**

Inmunidad adquirida. Véase **inmunidad adaptativa.**

Inmunidad innata. Defensas inespecíficas del hospedador que existen desde antes de la exposición al antígeno e incluyen mecanismos anatómicos, fisiológicos, endocíticos, fagocíticos e inflamatorios. Véase también **inmunidad adaptativa.**

Inmunidad mediada por células. Véase **inmunorreacción mediada por células.**

Inmunidad pasiva. Inmunidad adaptativa conferida por la transferencia de productos inmunitarios, como anticuerpos o células T sensibilizadas, de un individuo inmune a otro no inmune. Véase también **inmunidad activa.**

Inmunización. Proceso de inducir un estado de inmunidad en un sujeto. Véase también **inmunidad activa** e **inmunidad pasiva.**

Inmunización pasiva. Adquisición de inmunidad al recibir anticuerpos ya formados en lugar de la producción activa de anticuerpos después de la exposición al antígeno.

Inmunocompetente. Denota un linfocito maduro que es capaz de reconocer un antígeno específico y mediar una inmunorreacción.

Inmunodeficiencia. Cualquier deficiencia en la inmunorreacción. Puede deberse a un defecto en la fagocitosis, en la reacción humoral o en la mediada por células. Las inmunodeficiencias combinadas afectan tanto la reacción inmunitaria humoral como la celular (fig. 19-1).

Inmunodeficiencia combinada grave (SCID). Defecto genético en el que las respuestas de inmunidad adaptativa no ocurren por la falta de linfocitos T y posiblemente B y NK.

Inmunodeficiencia combinada grave ligada al sexo (XSCID). Inmunodeficiencia causada por mutaciones heredadas en la cadena γ común del receptor para IL-2, 4, 7, 9 y 15 que afecta su capacidad de transmitir señales del receptor a las proteínas intracelulares.

Inmunodifusión radial. Método para determinar la concentración relativa de un antígeno. La muestra de antígeno se coloca en un pozo y se permite que se difunda en el agar que contiene una dilución adecuada de un antisuero. El área del anillo de precipitina que se forma alrededor del pozo en la región de equivalencia es proporcional a la concentración de antígeno.

Inmunodominante. Se refiere a los epítopos que producen una inmunorreacción más pronunciada que otros en las mismas condiciones.

Inmunoelectroforesis. Técnica en que una mezcla de antígenos primero se separa en sus partes componentes mediante electroforesis y luego éstas se ensayan por **doble inmunodifusión.**

Inmunofluorescencia. Técnica para teñir células o tejidos con **anticuerpo fluorescente** y visualizarlas con un microscopio de fluorescencia.

Inmunogenicidad. Capacidad de una sustancia de inducir una inmunorreacción en circunstancias determinadas.

Inmunógeno. Sustancia capaz de inducir una inmunorreacción. Todos los inmunógenos son **antígenos**, pero algunos antígenos (p. ej., los haptenos) no son inmunógenos.

Inmunoglobulina. Familia de proteínas con actividad de anticuerpo.

Inmunoglobulina secretada (sIg). Forma de anticuerpo que las células B secretan, sobre todo las células plasmáticas. Esta forma de inmunoglobulina carece de un dominio transmembranal.

Inmunoglobulina unida a membrana (mIg). Forma de anticuerpo que se une a una célula como proteína transmembranal. Actúa como el receptor para antígeno específico de las células B.

Inmunorreacción humoral. Defensas del hospedador mediadas por anticuerpos presentes en el plasma, la linfa y los líquidos tisulares. Brinda protección contra bacterias extracelulares y macromoléculas ajenas. La transferencia de anticuerpos confiere este tipo de inmunidad al receptor. Véase también **inmunorreacción mediada por células.**

Inmunorreacción mediada por células. Defensas del hospedador que son mediadas por células T contra antígenos específicos y varias células inespecíficas del sistema inmunitario. Protege contra bacterias intracelulares, virus y cáncer, y es la que ocasiona el rechazo de los injertos. La transferencia de células T cebadas confiere este tipo de inmunidad al receptor. Véase también **inmunorreacción humoral.**

Inmunotoxina. Agentes con alto potencial citotóxico producidos por conjugación de un anticuerpo con un agente muy tóxico, casi siempre una proteína como la ricina.

Integrinas. Grupo de moléculas heterodiméricas de adhesión celular (p. ej., LFA-1, VLA-4 y Mac-1) presentes en diversos leucocitos que se unen con las moléculas de adhesión celular de la superfamilia de las inmunoglobulinas (p. ej., ICAM, VCAM-1) en el endotelio (fig. 15-2).

Interferones (IFN). Varias **citocinas** glucoproteínicas producidas y secretadas por ciertas células que inducen un estado antivírico en otras células y también ayudan a regular la inmunorreacción (cuadro 12-1).

Interleucinas (IL). Grupo de **citocinas** secretadas por los leucocitos que afectan sobre todo el crecimiento y la diferenciación de varias células hematopoyéticas y del sistema inmunitario (véase apéndice II).

Intermediarios reactivos de nitrógeno (RNI). Compuestos antimicrobianos con alta capacidad citotóxica formados por la combinación de oxígeno y nitrógeno dentro de fagocitos, como neutrófilos y macrófagos.

Intermediarios reactivos de oxígeno (ROI). Compuestos muy reactivos como el anión superóxido, los radicales hidroxilo y el peróxido de hidrógeno que se forman en las células y los tejidos en condiciones muy diversas.

Isoinjerto. Injerto entre individuos genéticamente idénticos.

Isotipo. 1) Clase de anticuerpo determinada por la secuencia de la región constante de la cadena pesada. Los cinco isotipos humanos, designados IgA, IgD, IgE, IgG e IgM, tienen diferencias estructurales y funcionales (cuadro 4-4). También se refiere al conjunto de **determinantes isotípicos** que todos los integrantes de una especie portan. (2) Uno de los cinco tipos principales de cadenas pesadas de las moléculas de anticuerpo (α, γ, δ, ε, y μ).

λ5. Polipéptido que se relaciona con **Vpre-B** para formar la **cadena ligera sustituta** del **receptor de célula pre-B.**

Lectina de unión a manosa (MBL). Proteína sérica que se une a manosa en las paredes celulares microbianas e inicia la lisis mediada por complemento.

Leucemia. Cáncer que se origina en cualquier clase de célula hematopoyética que tiende a proliferar como células individuales en la linfa o la sangre.

Leucemia linfocítica aguda (ALL). Una forma de cáncer en la que se observa proliferación descontrolada de una célula del linaje linfoide. Las células proliferantes casi siempre se encuentran en la sangre.

Leucemia linfocítica crónica (CLL). Un tipo de leucemia en que se producen linfocitos cancerosos en forma continua.

Leucemia mielógena aguda (AML). Una forma de cáncer en que ocurre proliferación descontrolada de una célula de la línea mieloide. Las células proliferantes casi siempre se encuentran en la sangre.

Leucemia mielógena crónica (CML). Un tipo de leucemia en que se producen células de la línea mieloide en forma constante.

Leucocito. Glóbulo blanco. La categoría incluye linfocitos, granulocitos, plaquetas, monocitos y macrófagos.

Leucocitosis. Cantidad excesiva de leucocitos, casi siempre por una infección aguda. Las cifras mayores de 10 000/mm^3 pueden considerarse leucocitosis.

Leucotrienos. Varios mediadores lipídicos de inflamación e hipersensibilidad tipo I; también se llaman *sustancia de reacción lenta de anafilaxis* (SRS-A). Son productos metabólicos del ácido araquidónico.

Línea celular. Población de células tumorales o células normales cultivadas que se sometió a **transformación** química o vírica. Las líneas celulares pueden propagarse de manera indefinida en cultivo.

Linfa. Líquido intersticial derivado del plasma sanguíneo que contiene diversas moléculas grandes y pequeñas, linfocitos y algunas otras células. Circula por los vasos linfáticos.

Linfoblasto. Un linfocito en proliferación.

Linfocina. Término que al principio se aplicó a las citocinas secretadas por los linfocitos, en especial por células T_H. Sustituido casi completamente ya por el término **citocina.**

Linfocito. Leucocito mononuclear que media la inmunidad humoral o celular. Véase también **célula B** y **célula T.**

Linfocito B. Un linfocito que madura en la médula ósea y expresa anticuerpo unido con su membrana. Después de interactuar con un antígeno, se diferencia en células plasmáticas secretoras de anticuerpo y células de memoria.

Linfocito T. Linfocito que madura en el timo y expresa un receptor de célula T, CD3, y CD4 o CD8. Se reconocen varias subpoblaciones distintas.

Linfocito T citotóxico (CTL). Célula T efectora (casi siempre CD8$^+$) que puede mediar la lisis de las células blanco que tienen péptidos antigénicos en complejo con una molécula MHC. Por lo general surge de una célula T_C activada por un antígeno.

Linfocitos intraepidérmicos (IEL). Células T que se encuentran en las capas de la epidermis.

Linfocitos intraepiteliales. Células T que se encuentran en la capa epitelial de órganos y el conducto gastrointestinal.

Linfólisis mediada por células (CML). Lisis in vitro de células alógenas o células singénicas infectadas por virus por efecto de las células T (fig. 14-17); puede usarse como prueba para la actividad de CTL o de MHC clase I.

Linfoma. Cáncer de células linfoides que tiende a proliferar como un tumor sólido.

Lipopolisacárido (LPS). Oligómero de lípido y carbohidrato que constituye la endotoxina de las bacterias gramnegativas. El lipopolisacárido actúa como activador policlonal de las células B murinas al inducir su división y diferenciación en células plasmáticas productoras de anticuerpos.

Líquido intersticial. Líquido que se encuentra en los espacios entre las células de un órgano o tejido.

Lisogenia. Estado en que el genoma vírico (**provirus**) se relaciona con el genoma del hospedador de tal manera que los genes víricos permanecen sin expresarse.

Lisosoma. Pequeña vesícula citoplásmica que se encuentra en muchos tipos de células; contiene enzimas hidrolíticas que tienen un papel importante en la degradación del material ingerido por **fagocitosis** y **endocitosis.**

Lisozima. Enzima presente en las lágrimas, la saliva y las secreciones mucosas que digiere mucopéptidos de las paredes celulares bacterianas y por tanto funciona como agente antibacteriano inespecífico. A menudo se usa como antígeno blanco en estudios inmunológicos.

Loci de histocompatibilidad menor. Genes fuera del MHC que codifican antígenos contribuyentes al rechazo de injertos.

Locus. Localización cromosómica específica de un gen.

LRR (repeticiones ricas en leucina). Motivo estructural proteínico que contiene la secuencia xLxxLxLxx.

Lupus eritematoso sistémico (SLE). Enfermedad autoinmunitaria caracterizada por autoanticuerpos contra una gran cantidad de antígenos tisulares, como DNA, histonas, eritrocitos, plaquetas, leucocitos y factores de coagulación.

Macrófago. Leucocito fagocítico mononuclear que tiene funciones en la inmunidad adquirida y la innata. Hay muchos tipos de macrófagos; algunos son migratorios mientras que otros están fijos en tejidos.

Macrófago alveolar. Un macrófago que se encuentra en los alvéolos pulmonares.

Maduración de afinidad. Incremento en la afinidad promedio del anticuerpo por un antígeno que ocurre durante el curso de una reacción inmunitaria o en exposiciones ulteriores al antígeno.

Maligno. Término que se refiere a células cancerosas capaces de multiplicarse sin control.

MALT (tejido linfoide relacionado con mucosas). Células y tejidos linfoides localizados bajo la capa epitelial de las superficies mucosas del organismo. Se encuentran en el aparato digestivo (GALT) y el tejido bronquial (BALT).

Mapeo de epítopos. Localización de sitios (epítopos) en una molécula de antígeno que reaccionan con diferentes anticuerpos o receptores de célula T.

Mastocito. Célula derivada de la médula ósea presente en diversos tejidos que se parece a los basófilos de la sangre periférica, tiene **receptores Fc** para IgE y experimenta **desgranulación** mediada por IgE.

Médula. Región más interna o central de un órgano.

Médula ósea. Tejido vivo que se encuentra dentro de la parte externa dura del hueso.

Memoria inmunitaria. Atributo del sistema inmunitario mediado por las **células de memoria** en el que un segundo encuentro con un antígeno induce un estado más intenso de reactividad inmunitaria.

Metástasis. Colonización por células tumorales de sitios distantes al primario.

MHC. Véase **complejo mayor de histocompatibilidad.**

Miastenia grave. Enfermedad autoinmunitaria mediada por anticuerpos que bloquean los receptores para acetilcolina en las placas terminales motoras de los músculos, lo que produce debilitamiento progresivo de los músculos esqueléticos.

Microambiente inductor de hematopoyesis (HIM). Sitio anatómico que contiene todas las células y factores celulares necesarios para la generación y el desarrollo de células sanguíneas.

Microglobulina β_2. Subunidad invariable que se une a la cadena α polimórfica para formar las **moléculas MHC clase I**; no se codifica en los genes MHC.

Microscopia inmunoelectrónica. Técnica en que los anticuerpos que se usan para teñir una célula o tejido están marcados con un material electrodenso y se visualizan al microscopio electrónico.

Mieloma múltiple. Cáncer de células plasmáticas.

Mitógeno. Cualquier sustancia que induce de manera inespecífica la síntesis de DNA y la división celular, en especial de los linfocitos. Son mitógenos frecuentes concanavalina A, fitohemaglutinina, **lipopolisacáridos (LPS)**, mitógeno de hierba grana y varios **superantígenos.**

Molécula de anticuerpo. Véase **anticuerpo.**

Moléculas de adhesión celular (CAM). Grupo de moléculas de la superficie celular que median la adhesión entre las células. La mayor parte pertenece a una de cuatro familias de proteínas: **integrinas**, **selectinas**, proteínas similares a mucina y **superfamilia de inmunoglobulinas** (fig. 13-1).

Moléculas de adhesión intercelular (ICAM). Moléculas de adhesión entre células que se unen a integrinas. Son miembros de la superfamilia de inmunoglobulinas.

Moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad (MHC). Proteínas codificadas por el complejo mayor de histocompatibilidad y agrupadas en las clases I, II y III. Véase también **MHC.**

Moléculas MHC clase I. Proteínas heterodiméricas de membrana que consisten en una cadena α codificada en el **MHC** unida por enlaces no covalentes con **microglobulina β_2** (fig. 8-3). Se expresan en casi todas las células con núcleo y su función es presentar antígeno a las células T $CD8^+$. Las moléculas típicas de clase I son H-2K, D y L en ratones, y HLA-A, B y C en seres humanos.

Moléculas MHC clase II. Proteínas heterodiméricas de membrana que consisten en cadenas α y β unidas por enlaces no covalentes, ambas codificadas en el **MHC** (fig. 8-3). Se expresan en las **células presentadoras de antígeno** y su función es presentar antígeno a las células $CD4^+$. Las moléculas típicas clase II son H-2 IA e IE en ratones, y HLA-DP, DQ y DR en seres humanos.

Moléculas MHC clase III. Varias proteínas codificadas en el **MHC**, pero distintas de las moléculas MHC clases I y II. Incluyen algunos elementos del complemento, dos 21-hidroxilasas esteroides y los factores de necrosis tumoral α y β.

Monocina. Citocina producida por macrófagos. Este término ha sido sustituido casi totalmente por **citocina.**

Monocito. Leucocito fagocítico mononuclear que circula poco tiempo en la corriente sanguínea antes de migrar a los tejidos donde se convierte en **macrófago.**

Motivo de activación de inmunorreceptor basado en tirosina (ITAM). Secuencia de aminoácidos en la porción intracelular de las moléculas de la superficie celular transductoras de señales que interactúa con las cinasas intracelulares y las activa después de que el ligando se une con la molécula de superficie.

Mucina. Grupo de proteínas glucosiladas ricas en serina y treonina. Son ligandos para las selectinas.

Muerte celular programada. Proceso inducido y ordenado en el que la célula participa de manera activa para producir su propia muerte.

Mutación somática templada. Véase **conversión génica.**

Necrosis. Cambios morfológicos que acompañan a la muerte de células individuales o grupos de células y que liberan grandes cantidades de componentes intracelulares al ambiente, lo que causa deterioro y atrofia del tejido. Véase también **apoptosis.**

Neoplasia. Cualquier crecimiento nuevo y anormal; un tumor benigno o maligno.

Neuraminidasa. Enzima que escinde ácido *N*-acetilneuramínico (ácido siálico) de glucoproteínas.

Neutrófilo. Granulocito fagocítico circulante que participa en la **reacción inflamatoria temprana** (fig. 2-9). Expresa **receptores Fc** y puede participar en la **citotoxicidad mediada por células y dependiente de anticuerpos.** Los neutrófilos son los leucocitos más numerosos en la circulación.

Northern blotting. Técnica frecuente para detectar mRNA en la cual las moléculas desnaturalizadas de mRNA se separan por electroforesis y luego se transfieren a una hoja de polímero, que se incuba con una sonda de DNA marcada radiactivamente específica para el mRNA en cuestión.

Nucleótidos de región N. Nucleótidos agregados por la enzima transferasa de desoxinucleotidilo terminal (TdT) a los extremos cortados 3′ de los segmentos codificadores V, D y J durante el reordenamiento.

Nucleótidos de región P. Véase **adición de nucleótidos P.**

Nucleótidos N. Véase **nucleótidos de región N.**

Oncogén. Gen que codifica una proteína capaz de inducir transformación celular. Los oncogenes derivados de virus se escriben *v-onc*; sus homólogos (**protooncogenes**) de las células normales se denominan *c-onc.*

Oncogén celular. Véase **protooncogén.**

Opsonina. Sustancia (p. ej., un anticuerpo o C3b) que promueve la fagocitosis de antígenos al unirse a ellos.

Opsonización. Depósito de opsoninas sobre un antígeno que favorece el contacto adhesivo estable con una célula fagocítica apropiada.

Órganos linfoides primarios. Órganos en que los precursores linfocíticos maduran en células inmunocompetentes especializadas en un antígeno. En los mamíferos, la médula ósea y el timo son los órganos linfoides primarios en los que maduran las células B y las células T, respectivamente.

Órganos linfoides secundarios. Órganos y tejidos en que los linfocitos inmunocompetentes maduros encuentran antígenos atrapados y se activan en **células efectoras.** En los mamíferos, los **ganglios linfáticos**, el **bazo** y el tejido linfoide relacionado con mucosas (MALT) constituyen los órganos linfoides secundarios.

Osteoclasto. Macrófago óseo.

Oxidasa fagosómica de NADPH (phox). Enzima que genera especies reactivas de oxígeno antimicrobianas, las cuales son usadas por células fagocíticas para destruir bacterias.

Paracorteza. Área del ganglio linfático debajo de la corteza que está poblada en su mayor parte por células T y células dendríticas interdigitantes.

Paracrino. Secreciones reguladoras, como las citocinas, que llegan por difusión desde una fuente celular cercana.

Patogenia. Medios por los cuales los microorganismos causantes de enfermedad atacan a un hospedador.

Patógeno. Un organismo causante de enfermedad.

Patrones moleculares relacionados con patógeno (PAMP). Patrones moleculares comunes a los patógenos pero que no se presentan en los mamíferos. Los PAMP son reconocidos por diversos receptores del sistema inmunitario innato.

Pentraxinas. Familia de proteínas séricas consistentes en cinco unidades globulares idénticas; la CRP es una pentraxina.

Péptido antigénico. En general, un péptido capaz de inducir una inmunorreacción, por ejemplo un péptido que forma un complejo con MHC que un receptor de célula T puede reconocer.

Péptido líder (L). Secuencia hidrófoba corta de aminoácidos en el extremo N terminal de las inmunoglobulinas recién sintetizadas; se inserta en la bicapa lipídica de las vesículas que transportan Ig a la superficie celular. El líder se elimina de los extremos de las moléculas maduras de anticuerpo por proteólisis.

Péptido señal. Pequeña secuencia de aminoácidos, también llamada **secuencia líder**, que guía la cadena pesada o ligera a través del retículo endoplásmico y se separa de las cadenas nacientes antes del ensamblaje de la molécula de inmunoglobulina terminada.

Perforina. Producto citolítico de los linfocitos T citotóxicos (CTL) que en presencia de Ca^{2+} se polimeriza para formar poros transmembranales en las células blanco (fig. 14-9).

Placas de Peyer. Folículos linfoides localizados a lo largo de la pared del intestino delgado que atrapan antígenos del conducto gastrointestinal y establecen sitios en que las células B y T pueden interactuar con antígenos.

Plasma. Porción líquida libre de células de la sangre que contiene todos los factores de coagulación.

Plasmacitoma. Cáncer de células plasmáticas.

Plasmaféresis. Procedimiento que implica la separación de la sangre en dos componentes: plasma y células. El plasma se elimina y las células se reintegran al individuo. Este procedimiento se practica durante el embarazo cuando la madre forma anticuerpos contra Rh que reaccionan con los eritrocitos del feto.

Plasmina. Proteasa de serina formada por la división del plasminógeno. Su principal función es la hidrólisis de la fibrina.

Pliegue de inmunoglobulina. Estructura característica de las inmunoglobulinas que consiste en un *dominio* de 100 a 110 aminoácidos plegados en dos hojas β recubiertas, cada una con tres o cuatro cadenas β antiparalelas y estabilizadas por enlaces disulfuro entre las cadenas (fig. 4-8).

Polimorfismo. Presencia de múltiples **alelos** en un locus genético específico. El complejo mayor de histocompatibilidad tiene polimorfismo alto.

Portador. Molécula inmunógena que contiene determinantes antigénicos reconocidos por las células T. La conjugación de un portador con un **hapteno** no inmunógeno vuelve inmunógeno el hapteno.

Precipitina. Anticuerpo que agrega un antígeno soluble y forma un complejo macromolecular que produce un precipitado visible.

Presentación de antígeno. Véase **procesamiento de antígeno.**

Procesamiento de antígeno. Degradación de antígenos por una de dos vías que producen péptidos antigénicos los cuales se presentan unidos a moléculas MHC en la superficie de las células presentadoras de antígeno o células propias alteradas.

Proinflamatorio. Que tiende a causar inflamación; TNF-α e IL-1 son citocinas proinflamatorias.

Prostaglandinas. Grupo de derivados lipídicos del ácido araquidónico con actividad biológica. Median la respuesta inflamatoria y la reacción de hipersensibilidad tipo I al inhibir la agregación plaquetaria, aumentar la permeabilidad vascular e inducir la contracción del músculo liso.

Proteasoma. Complejo grande de proteasas multifuncionales que causa la degradación de proteínas intracelulares.

Proteína A. Proteína de unión con F_C presente en la membrana de la bacteria *Staphylococcus aureus*. Se usa en inmunología para la detección de reacciones antígeno-anticuerpo y para la purificación de anticuerpos.

Proteína A/G. Proteína diseñada por ingeniería genética que se une con F_C; es un híbrido de la proteína A y la proteína G. Se emplea en inmunología para la detección de reacciones antígeno-anticuerpo y para la purificación de anticuerpos.

Proteína activadora específica de célula B (BSAP). Factor de transcripción codificado por el gen **Pax-5** y que desempeña una función esencial en las etapas temprana y tardía del desarrollo de la célula B.

Proteína C reactiva (CRP). Proteína de fase aguda que participa en la vía del complemento; un aumento en la concentración sérica de CRP indica inflamación.

Proteína de Bence-Jones. Proteína que se encuentra en altas concentraciones en la orina de pacientes con mieloma múltiple; casi siempre es una cadena ligera de Ig o un fragmento de ésta.

Proteína de fase aguda. Miembro de un grupo de proteínas séricas cuya concentración aumenta en respuesta a la inflamación. Algunos componentes del **complemento** e **interferones** son proteínas de fase aguda.

Proteína de respuesta de fase aguda. Miembro de una clase de proteínas sintetizadas en el hígado en respuesta a inflamación; durante ésta, las concentraciones séricas de dichas proteínas aumentan.

Proteína G. Proteína para unión con F_C presente en la membrana de las bacterias *Streptococcus*. En inmunología se utiliza para la detección de reacciones antígeno-anticuerpo y para la purificación de anticuerpos.

Protooncogén. Gen relacionado con el cáncer que codifica un factor que regula la proliferación, la supervivencia o la muerte celulares; aunque es necesario para la función celular normal, si muta o se produce en cantidades inapropiadas, se convierte en un oncogén, que puede inducir la transformación de la célula (fig. 21-2).

Provirus. DNA vírico que se integra en el genoma de la célula hospedadora en estado latente y debe activarse antes de transcribirse, lo que conduce a la producción de partículas víricas.

Pulpa blanca. Porción del bazo que rodea las arterias y forma la vaina linfoide periarteriolar (PALS), poblada sobre todo por células T (fig. 2-17).

Pulpa roja. Porción del bazo que consiste en una red de sinusoides poblados por macrófagos y eritrocitos (fig. 2-17). Es el sitio donde los eritrocitos viejos y defectuosos se destruyen.

Quimera. Animal o tejido compuesto por elementos provenientes de individuos con diferencias genéticas. El **ratón SCID-humano** es una quimera. También un anticuerpo que contiene la secuencia de aminoácidos de una especie en una región y la secuencia de una especie distinta en otra (p. ej., un anticuerpo con una región constante humana y una región variable de ratón).

Quimioatrayente. Sustancia que atrae leucocitos. Algunos quimioatrayentes también inducen cambios significativos en la fisiología de las células que tienen receptores para ellos.

Quimiocina. Cualquiera de los diversos polipéptidos de bajo peso molecular secretados que median la **quimiotaxis** para diferentes leucocitos y regulan la expresión o la adhesividad (o ambas) de las **integrinas** leucocíticas.

Radioinmunoensayo (RIA). Técnica muy sensible para medir un antígeno o anticuerpo que comprende la unión competitiva del antígeno o anticuerpo marcado con algún elemento radiactivo (fig. 6-9).

RAG. Véase **genes activadores de recombinación.**

Ratón desnudo, atímico o lampiño. Defecto genético homocigótico (*nu/nu*) portado por una cepa de ratón endogámico que causa la ausencia de timo y en consecuencia una deficiencia importante en las células T y la inmunidad mediada por células. Estos ratones carecen de pelo (de ahí el nombre) y pueden aceptar injertos de otras especies.

Ratón humano con SCID. Ratón inmunodeficiente en el que se han injertado elementos del sistema inmunitario humano, como fragmentos de médula ósea y timo. Estos ratones mantienen la diferenciación de células progenitoras hematopoyéticas humanas pluripotentes hasta inmunocitos maduros, por lo que son valiosos para estudios sobre el desarrollo de los linfocitos.

Reacción de fase aguda (APR). Producción de ciertas proteínas y células que aparecen en la sangre poco después de muchas infecciones. Es parte de la defensa temprana del hospedador contra la infección y precede a la fase adaptativa de la inmunorreacción (fig. 13-12).

Reacción de memoria. Véase **memoria inmunitaria.**

Reacción de Prausnitz-Kustner (P-K). Reacción cutánea local a un alergeno que presenta un sujeto normal en el sitio donde se inyecta IgE de un individuo alérgico. (Ya no se utiliza por el riesgo de transmitir SIDA o hepatitis.)

Reacción efectora. Acción que ocurre después del reconocimiento y la unión del antígeno con el anticuerpo; la lisis por acción de las proteínas del complemento es una reacción efectora. También se denomina función efectora.

Reacción inflamatoria. Reacción tisular localizada en caso de lesión u otro traumatismo caracterizada por dolor, calor, enrojecimiento e inflamación. Incluye efectos locales y sistémicos, y consiste en patrones alterados de flujo sanguíneo, entrada de células fagocíticas y otras células inmunitarias, eliminación de antígenos ajenos y curación del tejido dañado.

Reacción linfocítica mixta (MLR). Proliferación de células T in vitro en respuesta a las células que expresan moléculas MHC alógenas; puede usarse como prueba para la actividad de MHC clase II.

Reacción por transfusión. Reacción de hipersensibilidad tipo II a las proteínas o glucoproteínas en la membrana de eritrocitos transfundidos.

Reacción primaria. Respuesta inmunitaria que sigue a la exposición inicial al antígeno; se caracteriza por su corta duración y baja magnitud en comparación con la respuesta que se obtiene con las exposiciones ulteriores al mismo antígeno (**reacción secundaria**).

Reacción secundaria. Respuesta inmunitaria después de la exposición a un antígeno encontrado con anterioridad; es más rápida y de mayor magnitud y duración que la **respuesta primaria.**

Reactividad cruzada. Capacidad de un anticuerpo particular o receptor de célula T de reaccionar con dos o más antígenos que tienen un **epítopo** común.

Receptor de célula B (BCR). Complejo que comprende una molécula de inmunoglobulina unida a la membrana y dos moléculas Igα/Igβ unidas para la transducción de señales.

Receptor de célula pre-B. Complejo de heterodímero Igα/Igβ con Ig unida a la membrana que consiste en la cadena pesada μ unida a la **cadena ligera sustituta** Vpre-Bλ5.

Receptor de célula pre-T (pre-TCR). Complejo del grupo CD3 con una estructura consistente en la cadena β del receptor de la célula T en complejo con una glucoproteína de 33 kDa llamada cadena pre-Tα.

Receptor de célula T (TCR). Molécula para unión con antígeno que se expresa en la superficie de las células T y se relaciona con CD3. Es un heterodímero consistente en una cadena α y una β o en una cadena γ y una δ (figs. 9-3 y 9-4).

Receptor de direccionamiento. Receptor que dirige varias poblaciones de linfocitos hacia tejidos linfoides e inflamatorios particulares.

Receptor de reconocimiento de patrón (PRR). Receptor del sistema inmunitario innato que reconoce patrones o motivos moleculares presentes sobre o dentro de patógenos, pero ausentes en el hospedador.

Receptor Fc (FcR). Receptor en la superficie celular específico para la porción Fc de ciertas clases de inmunoglobulina. Se encuentra en linfocitos, mastocitos, macrófagos y otras células accesorias.

Receptor Fc neonatal (FcR_N). Molécula similar al MHC clase I que controla la vida media de la IgG y transporta la IgG a través de la placenta.

Receptor poli-Ig. Receptor para moléculas de Ig poliméricas (IgA o IgM) que se expresa en la superficie basolateral de la mayoría de las células del epitelio mucoso. Transporta Ig polimérica a través del epitelio.

Receptor tipo Toll (TLR). Familia de receptores de la superficie celular que reconocen distintas clases de moléculas; por ejemplo, TLR-4 reconoce lipopolisacáridos bacterianos.

Recombinasa V(D)J. Conjunto de actividades enzimáticas que de manera colectiva producen la unión de los segmentos del gen en una unidad V(D)J reordenada.

Reconocimiento de patrón. Capacidad de un receptor o ligando de interactuar con una clase de moléculas similares, como oligosacáridos que contienen manosa.

Refuerzo. Inoculación que se aplica para inducir una respuesta de memoria inmunitaria.

Región constante (C). Porción casi invariable de la molécula de inmunoglobulina que no contiene dominios para unión con antígeno. La secuencia de aminoácidos en la región constante determina el isotipo (α, γ, δ, ε y μ) de las cadenas pesadas y el tipo (κ y λ) de las cadenas ligeras.

Región de armazón (FR). Secuencia hasta cierto punto conservada de aminoácidos que se localiza a ambos lados de las regiones hipervariables en los dominios variables de las cadenas pesada y ligera de las inmunoglobulinas.

Región de bisagra. Segmento de la cadena pesada de una inmunoglobulina entre las regiones *Fc* y *Fab*. Proporciona flexibilidad a la molécula y permite que los dos sitios para unión con antígeno funcionen en forma independiente.

Región determinante de complementariedad (CDR). Porciones de las regiones variables de las moléculas de anticuerpo que sobresalen de los dominios V y tienen la capacidad de hacer contacto con antígenos. Los sitios para unión de antígeno de las moléculas de anticuerpo están compuestos por las regiones determinantes de complementariedad.

Región hipervariable. Una de las tres regiones dentro del dominio variable de cada cadena de inmunoglobulina y receptores de células T que presenta la mayor variabilidad de secuencia y contribuye con la mayor parte del sitio para unión con antígeno; también se llama *región determinante de complementariedad (CDR).*

Región variable (V). Porciones amino terminales de las cadenas de inmunoglobulina y el receptor de célula T que son muy variables y que brindan la **especificidad antigénica** a estas moléculas.

Regiones de cambio. En el cambio de clase, las secuencias de DNA que se localizan en el intrón 5′ de cada segmento C_H (excepto C_δ).

Reordenamiento improductivo. Redistribución en que los segmentos del gen se desfasan, de manera que el marco de lectura de tripletes para la traducción no se conserva.

Reordenamiento productivo. Unión de los segmentos V(D)J en fase para producir una unidad VJ o V(D)J que puede traducirse en su totalidad.

Resonancia de plasmones superficiales. Técnica instrumental para medir interacciones moleculares con base en cambios de las propiedades de reflectancia de un sensor recubierto con una molécula interactiva.

Restricción de MHC. Característica de las células T que les permite reconocer el antígeno sólo después de procesado y cuando los péptidos antigénicos resultantes se presentan acompañados de una **molécula MHC clase I** o **clase II.**

Retrovirus. Tipo de virus de RNA que utiliza la inversotranscriptasa para producir una copia en DNA de su genoma de RNA. El VIH, causante del SIDA, y el HTLV, que produce leucemia de células T del adulto, son retrovirus.

Rhogam. Anticuerpo contra el **antígeno Rh** que se emplea para prevenir la **eritroblastosis fetal.**

Riesgo relativo. Probabilidad de que un individuo con un rasgo determinado (más a menudo un rasgo genético) adquiera una enfermedad comparada con la probabilidad de los miembros del mismo grupo de población que carecen de tal rasgo.

Sarcoma. Tumor de tejido de sostén o conectivo.

Secuencias señal de recombinación (RSS). Secuencias de nucleótidos de siete y nueve elementos bien conservadas que sirven como señales para el proceso de reordenamiento de genes y que flanquean ambos lados de los segmentos V, D y J de la línea germinal (fig. 5-6).

Secuencias señal de recombinación de dos giros. Secuencias de señal de recombinación del gen de inmunoglobulina separadas por una secuencia intermedia de 23 pares de bases.

Secuencias señal de recombinación de un giro. Secuencias de señalización para la recombinación de genes de inmunoglobulinas separadas por una secuencia intermedia de 12 pares de bases.

Segmento génico. Secuencia de genes de la línea germinal que se combina con otras para formar una secuencia de codificación completa; los genes de Ig y TCR son productos de segmentos génicos V, D, J.

Segmento génico C (constante). Codificación 3′de un gen de inmunoglobulina o de receptor de célula T reordenados. Hay múltiples segmentos génicos C en el DNA de la línea germinal, pero como resultado del reordenamiento génico y, en algunos casos, del procesamiento del RNA, sólo se expresa un segmento en una proteína determinada.

Segmento génico J (de unión). Parte del gen de la inmunoglobulina reordenado o del gen del receptor de células T que une la región variable con la región constante y codifica parte de la **región hipervariable**. Hay múltiples segmentos génicos J en el DNA de la línea germinal, pero el reordenamiento génico sólo deja uno en cada gen reordenado funcional.

Segmento génico variable (V). Porción codificadora 5′ de los genes de inmunoglobulina y receptor de célula T reordenados. Hay múltiples segmentos génicos V en el DNA de la línea germinal, pero el reordenamiento de los genes deja sólo un segmento en cada gen funcional.

Selección clonal. Activación y proliferación mediada por antígeno de los miembros de una clona de células B que tienen receptores para el antígeno (o para complejos de MHC y péptidos derivados del antígeno, en el caso de las células T).

Selección negativa. Inducción de la muerte en linfocitos que tienen receptores que interactúan demasiado intensamente con antígenos del propio organismo.

Selección positiva. Proceso que permite la supervivencia sólo de aquellas células T cuyos receptores de célula T reconocen el MHC propio.

Selectina. Miembro de un grupo de **moléculas de adhesión celular** presente en los leucocitos (selectina L) y el endotelio (selectinas E y P) que se unen con moléculas de adhesión celular similares a mucina (p. ej., GlyCam, PSGL-1) (fig. 13-1).

Señal coestimuladora. Señal adicional necesaria para inducir la proliferación de las células T cebadas con antígeno y que se genera por la interacción de CD28 en las células T con B7 en las células presentadoras de antígeno o en las células propias alteradas (figs. 10-17 y 14-2). En la activación de las células B, se obtiene una señal análoga (señal 2 de competencia) por la interacción de CD40 en las células B con CD40L en las células T_H activadas.

Señalización. Comunicación intracelular iniciada por la interacción entre receptor y ligando.

Seudogén. Secuencia de nucleótidos que es un componente estable del genoma, pero es incapaz de expresarse. Se cree que proviene de una mutación de genes ancestrales activos.

Seudópodos. Protrusiones de membrana que se extienden de las células móviles y fagocíticas.

Síndrome de Chédiak-Higashi. Inmunodeficiencia autosómica recesiva ocasionada por un defecto en los gránulos lisosómicos que afecta la actividad de las células asesinas naturales.

Síndrome de DiGeorge. Aplasia congénita del timo ocasionada por la deleción de una secuencia del cromosoma 22 durante la vida embrionaria. Las consecuencias incluyen inmunodeficiencia, anomalías faciales y cardiopatía congénita.

Síndrome de Goodpasture. Enfermedad autoinmunitaria caracterizada por autoanticuerpos específicos contra ciertos antígenos de la membrana basal de los glomérulos renales y los alvéolos pulmonares.

Síndrome de hiper-IgM ligado al sexo. Trastorno de inmunodeficiencia en el que las células T_H no expresan CD40L. Los pacientes con este trastorno producen IgM pero no otros isotipos, no desarrollan centros germinales ni presentan hipermutación somática y no generan células B de memoria.

Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA). Enfermedad causada por el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) que se caracteriza por deficiencia significativa de células T $CD4^+$ que produce susceptibilidad a diversas infecciones y cánceres.

Singénico. Se refiere a individuos genéticamente idénticos.

Sintetasa de óxido nítrico (NOS) inducible. Forma inducible de NOS que genera el compuesto antimicrobiano óxido nítrico a partir de arginina.

Sistema del complemento. Véase **complemento.**

Sistema linfático. Red de vasos y ganglios que transporta linfa. Reintegra los líquidos intersticiales derivados del plasma a la corriente sanguínea y tiene una función importante en la integración del sistema inmunitario.

Southern blotting. Técnica usual para detectar secuencias específicas de DNA en la que los fragmentos de restricción enzimática se separan por electroforesis, luego se desnaturalizan y transfieren a una hoja de polímero, la cual se incuba con una sonda radiactiva específica para la secuencia de interés (fig. 22-9).

Sox-4. Factor de transcripción esencial para las etapas iniciales del desarrollo de las células B.

Subgrupo CC. Subgrupo de quimiocinas en el que un enlace disulfuro une cisteínas adyacentes.

Subgrupo CXC. Familia de citocinas que contienen puentes disulfuro entre cisteínas separadas por un aminoácido diferente (X).

Subgrupo T_H1. Subgrupo de células T colaboradoras que se encargan de la reacción T_H1 (cuadro 12-4).

Subgrupo T_H2. Subgrupo de células T colaboradoras que se encargan de la reacción T_H2 (cuadro 12-4).

Suero. Porción líquida de la sangre sin células y factores de coagulación.

Superantígeno. Cualquier sustancia que se une con el dominio V_β del receptor de la célula T y los residuos de la cadena α de las moléculas MHC clase II. Induce la activación de todas las células T que expresan receptores de célula T con un dominio V_β particular. Funciona como un **mitógeno** potente de células T y puede causar intoxicación alimentaria y otros trastornos.

Superfamilia de inmunoglobulinas. Grupo de proteínas que contiene dominios de **pliegue de inmunoglobulinas** o dominios con estructuras relacionadas; incluye las inmunoglobulinas, los receptores de células T, las moléculas MHC y muchas otras moléculas de membrana.

Sustancia de reacción lenta de anafilaxis (SRS-A). Término colectivo que se aplica a los leucotrienos que median la inflamación.

Sustrato cromógeno. Sustancia incolora que se transforma en productos coloreados por una reacción enzimática.

Tejido linfoide relacionado con mucosas (MALT). Tejido linfoide situado a lo largo de las membranas mucosas que recubren el tubo digestivo y las vías respiratorias y urogenitales.

Teorías de la línea germinal. Teorías que explican la diversidad de anticuerpos mediante el postulado de que todos los anticuerpos se codifican en los cromosomas del hospedador.

Teorías de la variación somática. Teorías que sostienen que el genoma contiene una pequeña cantidad de genes de inmunoglobulinas a partir de los cuales se genera una gran cantidad de especificidades de anticuerpos en las células somáticas por mutación o recombinación.

Terapia génica. Término general para cualquier medida encaminada a corregir un defecto genético por introducción de uno o más genes normales.

Timo. Órgano linfoide primario localizado en la cavidad torácica, donde ocurre la maduración de las células T.

Timocito. Célula T en desarrollo presente en el timo.

Tinción directa. Variación de la tinción de anticuerpo fluorescente en la que el anticuerpo primario se conjuga directamente con el marcador fluorescente.

Tinción indirecta. Método de tinción inmunofluorescente en que el anticuerpo primario no está marcado y se detecta con un reactivo adicional marcado con una sustancia fluorocromática.

Título. Una medida de la fuerza relativa de un antisuero. El título es el recíproco de la última dilución de un antisuero capaz de mediar algún efecto mensurable, como precipitación o aglutinación.

Tolerancia. Estado con ausencia de reacción inmunitaria a antígenos particulares o grupos de antígenos. El ejemplo típico es un organismo que no responde o es tolerante a sus propios antígenos.

Tolerancia central. Eliminación de linfocitos autorreactivos en órganos generadores primarios.

Tolerancia periférica. Proceso por el cual los linfocitos autorreactivos circulantes se eliminan o se hacen anérgicos.

Toxoide. Toxina que se modificó para eliminar su toxicidad, pero que aún funciona como **inmunógeno.**

Tráfico. Migración diferencial de células linfoides hacia y desde tejidos distintos.

Transcitosis. Movimiento de moléculas de anticuerpo (IgA o IgM poliméricas) a través de capas epiteliales mediado por el receptor poli-Ig.

Transductor de señales y activador de transcripción (STAT). Familia de factores de transcripción que se unen con los residuos fosforilados de tirosina de ciertos receptores en sus dominios SH_2. Estas moléculas desempeñan una función esencial en la transducción de señales de una gran variedad de citocinas.

Transfección. Introducción experimental de DNA ajeno en células cultivadas, casi siempre seguida por la expresión de los genes del DNA que se introdujo (fig. 22-12).

Transferencia adoptiva. Transferencia de la capacidad de inducir una reacción inmunitaria o participar en ella mediante trasplante de células del sistema inmunitario.

Transformación. Cambio que sufre una célula normal conforme se vuelve maligna; también se refiere a la alteración heredable permanente en una célula ocasionada por la captación e incorporación de DNA ajeno en su genoma.

Transgén. Gen ajeno clonado presente en una animal o planta.

Transportadores relacionados con procesamiento de antígeno (TAP). Proteínas heterodiméricas presentes en la membrana del retículo endoplásmico rugoso (RER) que transportan péptidos hacia la luz del RER, donde se unen con moléculas MHC clase I.

Tromboxano. Mediador inflamatorio lipídico derivado del ácido araquidónico (fig. 13-13).

Unión de codificación. Secuencia en el punto de unión de secuencias de codificación durante el reordenamiento V(D)J para formar un anticuerpo reajustado o genes del receptor de célula T.

Unión de señal. En el reordenamiento del gen V(D)J, la secuencia formada por la unión de las secuencias de señales de recombinación.

Vacuna. Preparado de material antigénico que se emplea para inducir inmunidad contra microorganismos patógenos.

Vacunación. Administración intencionada de una forma inocua o menos dañina de un patógeno para inducir una inmunorreacción específica que protege al individuo contra la exposición ulterior al mismo patógeno.

Vaina linfoide periarteriolar (PALS). Collar de linfocitos que rodea pequeñas arteriolas del bazo.

Valencia. Medida numérica de la capacidad de combinación, por lo general igual al número de sitios de unión. Las moléculas de anticuerpos son bivalentes o multivalentes, mientras que los receptores de célula T son univalentes.

Variabilidad. En relación con anticuerpos, se define como el número de diferentes aminoácidos en una posición dada entre la frecuencia del aminoácido más común en esa posición (fig. 4-12).

Vasos linfáticos. Vasos de paredes delgadas que conducen el líquido y las células del sistema linfático por los ganglios linfáticos y al final llegan al conducto torácico, donde se reúnen con la corriente sanguínea.

Vía alterna del complemento. Activación del **complemento** iniciada por constituyentes de la superficie celular ajenos, como los antígenos microbianos; es independiente de los anticuerpos. Comprende C3 a C9, los factores B y D, y la properdina; además genera el **complejo de ataque a membrana** (fig. 7-7).

Vía clásica (o común) del complemento. Activación del **complemento** iniciada por complejos antígeno-anticuerpo, incluye C1-C9 y genera el **complejo de ataque a membrana** (fig. 7-5).

Vía de lectina. Vía de activación del complemento iniciada por la unión de la proteína sérica MBL con el componente de las paredes celulares microbianas que contiene manosa (fig. 7-2).

Virgen. Se refiere a células B y T maduras que aún no se encuentran con un antígeno; es sinónimo de **no expuesta** o **no cebada.**

Virus del sarcoma de Rous (RSV). Retrovirus que induce la formación de tumores en especies de aves.

Vpre-B. Cadena polipeptídica que junto con λ5 forma la **cadena ligera sustituta** del receptor de célula pre-B.

Western blotting. Técnica usual para detectar una proteína en una mezcla; las proteínas se separan por electroforesis y luego se transfieren a una hoja de polímero, la cual se inunda con anticuerpo radiactivo o conjugado con enzima específico para la proteína de interés.

Xenoinjerto. Injerto o tejido trasplantado de una especie a otra.

Zona ligera. Región en el centro germinal que contiene muchas células dendríticas foliculares.

Zona marginal. Región difusa del bazo que se localiza en la periferia de la vaina linfoide periarteriolar, entre la **pulpa roja** y la **pulpa blanca**, rica en células B y que contiene folículos linfoides, los cuales pueden desarrollarse en **centros germinales** (fig. 2-17).

Zona oscura. Una porción del centro germinal que es el sitio de división celular rápida por formas de células B llamadas centroblastos.

Respuestas a las preguntas de estudio

Capítulo 1

Pregunta de enfoque clínico: La dieta de un individuo alérgico debe estar libre de semillas de árbol (“nueces”). Hay que revisar todos los productos que ingiere en forma directa o que se utilizan en la preparación de los alimentos para esta persona a fin de detectar nueces o extractos de nueces entre los ingredientes. Los niños con edad suficiente para leer y comprender las etiquetas han de aprender a hacerlo por sí mismos; de lo contrario, todas las personas que les ofrezcan comida tienen que conocer su situación. Se debe prestar atención particular a los productos horneados de fuentes desconocidas, como los almuerzos de los amigos en la escuela. Un alergólogo puede recomendar las medidas que deben tomarse durante un episodio agudo; tal vez impliquen tener a la mano una inyección de adrenalina. Debe informarse al maestro y a la enfermera de la escuela respecto al padecimiento, y es necesario que conozcan el tratamiento recomendado en caso de urgencia.

1. El método de Jenner de utilizar la infección por el virus de la viruela bovina para conferir inmunidad a la viruela humana era superior a los métodos usados con anterioridad porque conllevaba un riesgo significativamente menor de producir enfermedad grave. El método previo de usar material de lesiones de víctimas de viruela humana confería inmunidad pero con el riesgo de inducir la enfermedad, potencialmente letal.

2. El método de Pasteur para tratar la rabia consta de una serie de inoculaciones con virus de la rabia atenuados. Por este proceso se inmuniza activamente al receptor, que entonces tiene anticuerpos antirrábicos para detener el avance de la infección. Una prueba sencilla para detectar inmunidad activa sería buscar anticuerpos antirrábicos en la sangre del receptor un tiempo después de que se ha completado el tratamiento, cuando es de esperar que se hayan eliminado de la circulación todos los anticuerpos de un tratamiento pasivo. De manera alternativa, podría inocularse al receptor con virus de la rabia atenuados para ver si ocurre una reacción secundaria (este método es inaceptable por sus implicaciones éticas).

3. Las madres inmunizadas conferirían inmunidad a su progenie, porque los anticuerpos antiestreptocócicos cruzan la barrera placentaria y están presentes en los bebés al nacer. Además, el calostro y la leche maternos contendrían anticuerpos que protegerían al lactante contra la infección.

4. (a) MC. (b) H y MC. (c) H y MC. (d) H y MC. (e) MC. (f) MC. (g) H. (h) MC. (i) H. (j) H. (k) MC.

5. Los cuatro atributos inmunitarios son especificidad, diversidad, memoria y reconocimiento de lo propio y lo ajeno. La especificidad se refiere a la capacidad de ciertas moléculas unidas a la membrana de un linfocito maduro de reconocer exclusivamente un antígeno (o un pequeño grupo de antígenos relacionados). El reordenamiento de los genes de inmunoglobulina durante la maduración de los linfocitos da origen a la especificidad antigénica; también genera una gran variedad de especificidades distintas, o diversidad, entre los linfocitos maduros. La capacidad del sistema inmunitario de reaccionar a las moléculas ajenas, pero (en general) no a las propias, se debe a la eliminación de las células inmaduras que reconocen los antígenos propios, lo que sucede durante la maduración. Tras la exposición a un antígeno particular, los linfocitos maduros reactivos a ese antígeno proliferan y se diferencian, lo que genera una mayor población de células de memoria con la misma especificidad; esta población ampliada puede reaccionar con más rapidez e intensidad luego de una exposición ulterior al mismo antígeno, lo que constituye la memoria inmunitaria.

6. La inmunorreacción secundaria implica una población ampliada de células de memoria. La respuesta es más rápida y alcanza niveles más altos que la primaria.

7. (a) Tanto los anticuerpos como los receptores de célula T presentan especificidad fina para el antígeno; modificaciones muy pequeñas en un antígeno pueden impedir que se una con su anticuerpo o receptor de célula T correspondiente. Las moléculas MHC carecen de esta especificidad fina, y una gran variedad de antígenos peptídicos no relacionados pueden unirse con la misma molécula MHC. (b) Los anticuerpos se expresan sólo en células del linaje B; los receptores de célula T se expresan en células del linaje T; las moléculas MHC clase I se expresan en todas las células nucleadas; las moléculas MHC clase II se expresan sólo en células especializadas que funcionan como células presentadoras de antígeno (p. ej., células B, macrófagos y células dendríticas). (c) Los anticuerpos pueden unirse a antígenos proteínicos o lipopolisacáridos; los receptores de célula T reconocen sólo péptidos unidos a moléculas MHC; las moléculas MHC sólo se unen a péptidos procesados.

8. (a) Macrófagos, células B, células dendríticas. (b) Coestimulante; células T_H. (c) II; I. (d) Leucocito. (e) Adaptativa. (f) CD8, Cd4. (g) Epítopo.

9. Sólo pueden reconocer antígeno unido a moléculas MHC clase I.

10. La inmunidad innata y la adaptativa cooperan para producir una reacción protectora completa contra los agentes patógenos. Un ejemplo es la célula fagocítica, que capta material extraño y lo procesa para formar antígenos peptídicos que el fagocito presenta. Los antígenos presentados estimulan las células T, que brindan ayuda a las células B para producir anticuerpos o estimulan las células citotóxicas para que confieran protección contra las células infectadas o cancerosas. Además, las células fagocíticas participan en la inflamación mediante la producción de citocinas que atraen células T y células B al sitio.

11. Las consecuencias de las formas leves de disfunción inmunitaria incluyen estornudos, urticaria y exantemas ocasionados por alergias. El asma y las reacciones anafilácticas son consecuencias más graves de la alergia y pueden ocasionar la muerte. Las consecuencias de la disfunción inmunitaria grave comprenden susceptibilidad a infecciones por diversos patógenos microbianos si la disfunción produce inmunodeficiencia, o enfermedades crónicas debilitantes, como la artritis reumatoide, si la disfunción implica autoinmunidad. La causa más frecuente de inmunodeficiencia es la infección con el retrovirus VIH-1, que ocasiona el síndrome de inmunodeficiencia adquirida.

12. (a) Falso. (b) Falso. (c) Falso. (d) Verdadero.

13. (a) Verdadero. (b) Verdadero. (c) Verdadero. (d) Verdadero. (e) Falso: el antígeno debe ser presentado a las células T en el contexto de moléculas MHC. (f) Falso: los péptidos se agregan a la hendidura de unión de la molécula MHC clase I en una vesícula. (g) Verdadero.

14. (a) 2. (b) 3. (c) 4. (d) 1.

Capítulo 2

Pregunta de enfoque clínico: (a) Este resultado es poco probable; como las células hematopoyéticas donantes se diferencian en células T y B en un ambiente que contiene antígenos característicos tanto del hospedador como del donante, hay tolerancia hacia las células y tejidos de ambos. (b) Este resultado es improbable. Las células T provenientes de las células madre hematopoyéticas del donante se desarrollan en presencia de las células y los tejidos del hospedador, por lo que son tolerantes a ellas. (c) Este resultado es improbable por las razones citadas en (a). (d) Este resultado es probable por las razones citadas en (a).

1. (a) En general, las células CD4$^+$ que reconocen moléculas MHC clase II funcionan como células T_H, mientras que las células CD8$^+$ que reconocen moléculas MHC clase I funcionan como células T_C. Sin embargo, algunas células T_H funcionales expresan CD8 y se restringen a la clase I, y algunas células T_C expresan CD4 y se limitan a la clase II. No obstante, éstas son excepciones al patrón general. (b) La médula ósea contiene pocas células madre pluripotenciales, que constituyen sólo alrededor de 0.05% de todas las células de la médula ósea. (c) Las células T_H reconocen el antígeno unido a moléculas MHC clase II. La activación de los macrófagos aumenta su expresión de moléculas MHC clase II. (d) Los folículos linfoides organizados también se presentan en las amígdalas, las placas de Peyer y otro tejido relacionado con mucosas. (e) En respuesta a la infección, las células T_H y los macrófagos se activan y secretan varias citocinas que inducen una mayor actividad hematopoyética. La hematopoyesis inducida amplía la población de leucocitos que pueden combatir la infección. (f) A diferencia de otros tipos de células dendríticas, las células dendríticas foliculares no expresan moléculas MHC clase II, por lo que no funcionan como células presentadoras de antígeno para la activación de las células T_H. Estas células, que sólo están presentes en los folículos linfoides, pueden atrapar complejos antígeno-anticuerpo circulantes; se cree que esta capacidad facilita la activación de las células B y el desarrollo de las células B de memoria. (g) Los linfocitos B y T poseen receptores para unión a antígeno, pero una pequeña población de células linfoides, llamadas células nulas, no los tienen. (h) Aunque muchos animales, como los ratones y el ser humano, producen células B en la médula ósea, otros, como los rumiantes, no lo hacen. (i) Aún no se demuestra la presencia de células T o B en peces sin mandíbula como la lamprea y el anfioxo.

2. (a) Progenitora mieloide. (b) Progenitora de granulocitos y monocitos. (c) Célula madre hematopoyética. (d) Progenitora linfoide.

3. Los órganos linfoides primarios son la médula ósea (bolsa de Fabricio en las aves) y el timo. Estos órganos funcionan como sitios para la maduración de células B y T respectivamente.

4. Los órganos linfoides secundarios son el bazo, los ganglios linfáticos y el tejido linfoide relacionado con mucosas (MALT) en varios sitios. El MALT incluye amígdalas, placas de Peyer y apéndice, así como colecciones laxas de células linfoides relacionadas con mucosas que recubren los sistemas respiratorio, digestivo y urogenital. Todos estos órganos atrapan antígenos y proporcionan sitios donde los linfocitos pueden interactuar con el antígeno y luego presentar expansión clonal.

5. Las células madre son capaces de renovarse a sí mismas y pueden dar origen a más de un tipo celular, mientras que las células progenitoras perdieron la capacidad de renovarse a sí mismas y están destinadas (comprometidas) a un solo linaje celular. El compromiso de las células progenitoras depende de su adquisición de la capacidad de respuesta a factores de crecimiento particulares.

6. Las dos funciones principales del timo son la generación y la selección de un repertorio de células T que proteja al cuerpo contra la infección.

7. Los ratones lampiños y las personas con síndrome de DiGeorge tienen un defecto congénito que impide el desarrollo del timo. Ambos carecen de células T circulantes y no pueden montar inmunorreacciones mediadas por células.

8. En el ser humano el timo alcanza su tamaño máximo durante la pubertad. Durante la edad adulta se atrofia de manera progresiva.

9. Los ratones sometidos a una carga letal de radiación sirven como sistemas de ensayo para las HSC multipotenciales, ya que sólo los ratones inyectados con estas células madre pueden reconstituir sus sistemas hematopoyéticos y sobrevivir. Conforme las HSC se enriquecen de manera sucesiva, el número total de células que debe inyectarse para restaurar la hematopoyesis, y por tanto permitir la supervivencia, disminuye.

10. Los monocitos son los precursores sanguíneos de los macrófagos. Los monocitos tienen un núcleo con forma característica de riñón o frijol y capacidad limitada de destrucción microbiana comparada con la de los macrófagos. Éstos son mucho más grandes que los monocitos y experimentan cambios de fenotipo para incrementar la fagocitosis, mecanismos antimicrobianos (dependientes e independientes de oxígeno) y secreción de citocinas y otros moduladores del sistema inmunitario. También se encuentran funciones específicas de tejido en los macrófagos tisulares.

11. La bolsa de Fabricio en las aves es el principal sitio donde los linfocitos B se desarrollan. La bursectomía ocasionaría una falta de células B recirculantes y de inmunidad humoral, y es probable que fuera letal.

12. La mayor parte de las bacterias y los hongos son destruidos y degradados después de la fagocitosis por los macrófagos; los péptidos antigénicos resultantes se presentan junto con moléculas MHC clase II sobre la superficie celular, donde pueden inducir la activación de las células T y la respuesta ulterior de anticuerpos (humoral). En contraste, las bacterias y los hongos intracelulares tienen varios mecanismos para sobrevivir en los macrófagos después de la fagocitosis. Por ello estas bacterias no inducen una respuesta de anticuerpos.

13. (a) Verdadero. (b) Falso: la zona marginal es rica en células B y el PALS es rico en células T. (c) Verdadero. (d) Verdadero. (e) Falso: el bazo no tiene vasos linfáticos. (f) Falso: además de ser esencial para la formación de células NK, Ikaros también es indispensable para la formación de células T y células B. Por tanto su eliminación impediría que los ganglios linfáticos sirvieran como sitios para la generación de inmunorreacciones adaptativas.

15. (a) 5. (b) 10. (c) 3. (d) 6. (e) Ninguno. (f) 4. (g) 11. (h) 14. (i) 7. (j) 12. (k) 8. (l) 16. (m) 15. (n) 2. (o) 6. (p) 5 (y todas las demás células hematopoyéticas).

Capítulo 3

Pregunta de enfoque clínico: La aterosclerosis es el depósito en las arterias de material esponjoso tipo lípido que bloquea el flujo sanguíneo normal y causa el riesgo de isquemia (falta de riego sanguíneo a un órgano específico) e infarto (ataque cardíaco). Esta condición comienza con el depósito de macrófagos en la pared de la arteria y en la íntima (espacio entre la pared y el interior). El reclutamiento de macrófagos es característico de una reacción inflamatoria, y más macrófagos y otras células fagocíticas se dirigen a la zona inflamada, lo que empeora el bloqueo del vaso. Las concentraciones sanguíneas de la proteína de reacción aguda CRP aumentan durante una reacción inflamatoria. El aumento crónico de CRP es indicador de inflamación crónica, como la que se observa en la aterosclerosis.

1. Las células del sistema inmunitario innato expresan varias citocinas y quimiocinas que reclutan células de inmunidad adaptativa en el sitio de infección. Un puente celular clave entre la inmunidad innata y la adaptativa es la célula dendrítica, que puede adquirir antígenos de un agente externo en el sitio de infección, migrar de regreso a tejidos linfáticos y presentar esos antígenos a células T y B, dando origen a reacciones adaptativas específicas contra el agente invasor.

El sistema del complemento participa en ambos tipos de inmunidad y puede ser activado por diversos productos microbianos a través de receptores solubles y de membrana o por reacciones de anticuerpo específicas. Subproductos de la activación del complemento estimulan tanto células del sistema adaptativo como del innato y las reclutan en el sitio de infección o lesión.

2. La inflamación se caracteriza por enrojecimiento, calor, tumefacción, dolor y a veces pérdida de la función local. Las acciones de los leucocitos reclutados en la zona afectada producen los signos observados de inflamación: la expresión de citocina puede causar aumentos de temperatura y tumefacción debido a aumento de la permeabilidad capilar, y la distensión de la zona afectada causa dolor y enrojecimiento (rubor). El incremento en la permeabilidad de los capilares facilita el ingreso de células en la zona afectada, atraídos por moléculas solubles que se liberan durante las primeras fases de la reacción. La inmunoreacción innata consiste en el reclutamiento de células fagocíticas que engullen patógenos, moléculas solubles específicas que atacan y neutralizan o destruyen invasores, y movilización de reacciones adaptativas si los atacantes sobreviven a las defensas innatas. Todas estas acciones se basan en la reunión de las defensas en el sitio de la infección o lesión, y es este concierto de células y mediadores químicos lo que causa las características de la inflamación.

3. (a) Interferón, NK. (b) iNOS, arginina, NADPH, NO. (c) Oxidasa fagosómica de NADPH, O_2, ROS, NO, RNS. (d) Célula dendrítica, moléculas MHC clase I, clase II, T_H, T_C, célula dendrítica. (e) CRP, MBL. (f) APR, mediadores (receptores) solubles, CRP, MBL. (g) TLR7, TLR8, TLR9. (h) PRR, receptores de célula T, anticuerpo. (i) PRR, moléculas MHC clase II, moléculas MHC clase I. (j) TLR2, PRR. (k) PRR, PAMP. (l) TLR4, TLR2. (m) Complemento.

4. B. Beutler demostró que los ratones *lpr* eran resistentes a endotoxina y que la diferencia genética en estos ratones era la falta de un TLR4 funcional debido a una mutación individual en la secuencia del receptor. R. Medzhitov y C. Janeway demostraron que una proteína (TLR4) con homología con Toll activaba la expresión de genes de inmunorreacción cuando se expresaba en una línea celular humana.

5. Entre las desventajas de la inmunidad adaptativa se incluye la posibilidad de reacciones autoinmunitarias, que pueden dar por resultado enfermedad. Al parecer las desventajas son contrarrestadas de manera abrumadora por las ventajas de los sistemas combinados. Por ejemplo, la inmunidad innata no es capaz de reaccionar a nuevos patógenos que carecen de características moleculares reconocidas por PRR, y no hay memoria, así que las vacunas no son una opción. El tiempo de respuesta de la inmunidad adaptativa es largo. Dadas sus ventajas y desventajas complementarias, ambos sistemas podrían considerarse esenciales.

6. Por medio de proteínas antimicóticas como drosomicina. El ser humano tiene varias proteínas antimicrobianas que reconocen características moleculares de grupos de patógenos y son capaces de destruir éstos.

7. (a) El bloqueo de las interacciones integrina-ICAM inhibirá la inmunidad adaptativa al alterar la extravasación de células T y macrófagos e interferir en la interacción de células T y células dendríticas. El bloqueo del acceso de los macrófagos al sitio de inflamación bloqueará su activación y secreción de citocinas y quimiocinas, que apoyan las reacciones adaptativas. La extravasación de leucocitos es inhibida porque depende de las interacciones integrina-ICAM; no hay efecto en la reacción de fase aguda; no hay efecto en la inducción de lisis mediada por complemento porque los componentes del sistema del complemento son humorales, no celulares; la inflamación es afectada porque la migración de células a sitios inflamados es un componente importante de la reacción inflamatoria; y por último, las vías intracelulares de generación de ROS y RNS no son influidas por las interacciones integrina-ICAM.

(b) El TLR4 es responsable del reconocimiento de LPS por el sistema inmunitario innato. En el caso de infecciones o inmunizaciones en que no interviene LPS, ninguno de los procesos mencionados es afectado. Sin embargo, en el caso de infecciones por bacterias gramnegativas o exposición a LPS por otros medios (medicamentos contaminados, por ejemplo), podrían inhibirse la inducción de inmunidad adaptativa, la inducción de inflamación y la inducción de ROS y RNS.

(c) Durante las inmunorreacciones innatas, TNF-α e IL-1, citocinas producidas por macrófagos y otros tipos celulares, median la inflamación e influyen en las inmunorreacciones adaptativas. La incapacidad de producir estas citocinas inflamatorias puede dar por resultado decremento de la inmunidad adaptativa e inflamación. Esas citocinas no influyen de manera directa en la extravasación de leucocitos, la reacción de fase aguda o la lisis mediada por complemento.

(d) Las mutaciones en el sistema enzimático phox pueden inhibir la generación de ROS y RNS.

(e) La desactivación de las moléculas MHC clase II inhibirá de manera directa la inmunidad adaptativa porque son necesarias para la activación de células T colaboradoras por células presentadoras de antígeno. No habrá efectos directos en la extravasación, la reacción de fase aguda, la lisis mediada por complemento o la estimulación innata de ROS y RNS.

Analice los datos: (a) Sí. La parte (a) de la figura demuestra que la unión de los TLR da por resultado inhibición significativa de la apoptosis, con o sin la adición del inhibidor de NF-κB, SN50. La inhibición de la apoptosis de neutrófilos puede conferir una ventaja al hospedador al permitir a los neutrófilos funcionar más tiempo mientras combaten la infección. Una desventaja potencial es que durante la infección crónica, los neutrófilos persistentes producirían y secretarían sustancias tóxicas que podrían causar trastornos al hospedador.

(b) Los datos sugieren que la vida de los neutrófilos no se alargaría. La parte (b) de la figura indica que la fosforilación (y activación; véase la figura 3-15) de IKK ocurre en respuesta a los agonistas de TLR que incrementan el tiempo de vida de los neutrófilos. La parte (a) indica que SN50, un inhibidor de NF-κB (un producto de la reacción catalizada por IKK), reduce el efecto de la unión de TLR en la apoptosis de neutrófilos. IKK fosforila IκB, que entonces se disocia de NF-κB. Entonces éste se une a DNA, donde funciona como activador de la transcripción para genes dependientes de NF-κB. Una menor actividad de NF-κB se correlaciona en este experimento con menor inhibición de la apoptosis (parte a, barras negras), lo cual sugiere que la IKK defectuosa no daría por resultado aumento de la vida media de los neutrófilos.

(c) A partir de los datos de (b), no parece ser que TLR5 y TLR7 induzcan la fosforilación de IKK. Estos datos sugieren que TLR5 y TLR7 podrían actuar por vías de transducción de señales alternativas. Dado que IKK es necesaria para la activación de NF-κB y la inhibición de la apoptosis, estas moléculas de TLR no podrían fomentar la supervivencia de las moléculas de TLR.

Capítulo 4

Pregunta de enfoque clínico: (a) Una población de donantes grande y con diversidad geográfica tendrá un espectro más amplio de especificidades de anticuerpo que una obtenida de una sola región. Esto se debe a que algunos patógenos frecuentes en una región geográfica no están presentes en otra. Por ello, las personas de distintas áreas difieren en el espectro de anticuerpos que su sistema inmunitario genera. Además, incluso en caso de patógenos que se encuentran en las cuatro áreas mencionadas, en muchas ocasiones se observan diferencias importantes en las cepas de los patógenos particulares de un continente a otro. (b) El producto de la compañía B debe administrarse a la población de personas que viajan extensamente, a fin de protegerlos contra patógenos menos comunes en Estados Unidos. Sin embargo, si se exponen a una cantidad significativa de visitantes extranjeros, se beneficiarían del espectro más diverso de anticuerpos en el producto de la compañía B.

1. (a) Verdadero. (b) Verdadero. (c) Falso: un hapteno no puede estimular una respuesta inmunitaria a menos que se conjugue con una proteína portadora más grande. Sin embargo, el hapteno puede combinarse con anticuerpo preformado específico para el hapteno. (d) Verdadero. (e) Falso: una célula T puede reconocer sólo los péptidos que se procesaron y presentaron mediante moléculas de MHC. Estos epítopos tienden a ser péptidos internos. (f) Verdadero. (g) Falso: los inmunógenos son capaces de estimular una inmunorreacción específica; los antígenos pueden combinarse de manera específica con los anticuerpos o los receptores de células T inducidos durante una respuesta inmunitaria. Aunque todos los inmunógenos presentan antigenicidad, algunos antígenos no presentan inmunogenicidad. (h) Verdadero: los receptores de célula T no se unen a antígenos libres. Nótese que esta respuesta es correcta para los receptores de célula T αβ, algunos receptores de célula T γδ se unen al antígeno en forma directa. (i) Falso. Los epítopos de célula B en una proteína provienen no sólo de la estructura primaria sino también de la secundaria, la terciaria e incluso la cuaternaria de una proteína.

2. (a) BSA natural: es probable que la desnaturalización con calor destruya los epítopos de células B en una proteína globular, aunque por lo general los epítopos de células T son estables al calor. (b) Lisozima de clara de huevo de gallina (HEL): la inmunogenicidad de un antígeno casi siempre se relaciona con su extrañeza al animal expuesto. Sin embargo, la colágena y algunas otras proteínas muy conservadas a lo largo de la evolución muestran poca extrañeza entre diversas especies, por lo que son antígenos débiles. (c) Proteína con peso molecular de 150 000; las proteínas más grandes tienen mayor actividad inmunógena que las pequeñas cuando otros rasgos son iguales. (d) el BSA en coadyuvante completo de Freund será más inmunógeno porque las micobacterias incluidas en éste tienen componentes que estimulan una amplia gama de tipos celulares a través de sus PRR y por tanto harán participar estas células en la reacción contra el BSA. El coadyuvante incompleto carece de las micobacterias agregadas y no proporcionará el amplio estímulo que se observa con el completo.

3. b, d.

4. (a) T. (b) T. (c) B. (d) B. (e) T. (f) T. (g) BT. (h) B. (i) BT.

5. (a) Verdadero. (b) Verdadero. (c) Falso: múltiples isotipos pueden aparecer en la superficie de una célula B individual. Una célula B madura expresa tanto IgM como IgD. (d) Verdadero. (e) Verdadero. (f) Verdadero. (g) Falso: la IgM sérica secretada es un pentámero. Por su mayor tamaño y valencia, la IgM es más eficaz que la IgG para establecer enlaces cruzados con los antígenos de la superficie bacteriana, lo que produce aglutinación. (h) Verdadero. (i) Verdadero. (j) Falso: las regiones variables tanto de las cadenas pesadas como de las ligeras contienen cerca de 110 aminoácidos.

6. (a) La molécula debería tener las siguientes características estructurales: dos cadenas pesadas idénticas y dos cadenas ligeras idénticas (H_2L_2); enlaces disulfuro entre cadenas que unieran las cadenas pesadas (H-H) y las cadenas pesadas con las ligeras (H-L); una serie de dominios dentro de las cadenas que tuviera

alrededor de 110 aminoácidos y que se estabilizara por medio de un puente disulfuro intradominio que formara un asa de unos 60 aminoácidos, y un dominio constante único en las cadenas ligeras y tres o cuatro dominios constantes en las cadenas pesadas. El dominio amino terminal de las cadenas pesadas y ligeras debería mostrar variación de secuencia. (b) Los antisueros para la IgG humana completa y para la cadena humana κ deben reaccionar de manera cruzada con la nueva clase de inmunoglobulina porque los dos antisueros poseen anticuerpos específicos para la cadena ligera. Se esperaría que el nuevo isotipo tuviera cadenas ligeras κ o λ. (c) Reducir los enlaces disulfuro entre cadenas del nuevo isotipo con mercaptoetanol y alquilación. Separar las cadenas pesadas y ligeras. Inmunizar un conejo con la cadena pesada. Tras la absorción con todos los isotipos humanos conocidos, el antisuero de conejo debe reaccionar con el isotipo nuevo, pero con ninguno de los otros isotipos.

7. La IgM y la IgD difieren en sus dominios de región constante, mientras que la especificidad antigénica depende de los dominios de región variable. Se encuentran moléculas de IgM e IgD que tienen dominios C distintos, pero dominios V_H y V_L idénticos en una célula B determinada; por tanto la célula es inespecífica aunque porte dos isotipos.

8. Las ventajas de la IgG en comparación con la IgM son 1) su capacidad de cruzar la placenta y proteger al feto en desarrollo, 2) su mayor concentración en suero, que determina que los anticuerpos IgG se unan y neutralicen más moléculas de antígeno y sean más eficaces para eliminarlos, y 3) su tamaño más pequeño, que permite a la IgG difundirse con más facilidad hacia los líquidos intercelulares. Las desventajas de la IgG en comparación con la IgM incluyen su menor capacidad de 1) aglutinar antígenos y 2) activar el sistema del complemento, efectos ambos que se deben a la menor valencia de IgG.

9. (a) Véanse las figuras 4-6 y 4-7. El número de enlaces disulfuro que unen las cadenas pesadas varía entre las subclases de IgG (véase fig. 4-18). (b) Dibuje como un dímero que contiene cadenas pesadas. Agregue una cadena J y un componente secretor (véase fig. 4-19a). (c) Se dibuja como un pentámero que contiene cadenas pesadas μ. La cadena μ tiene cinco dominios y ninguna región de bisagra; el dominio C_H adicional sustituye la bisagra. Se agrega una cadena J. La IgM pentamérica también tiene enlaces disulfuro adicionales entre las cadenas que unen los dominios C_H en las subunidades y la cadena J con dos de las subunidades (véase fig. 4-17e).

10.

Propiedad	IgG entera	Cadena H (pesada)	Cadena L (ligera)	Fab	$F(ab')_2$	Fc
Unión de antígeno	+	+/−	+/−	+	+	−
Unión bivalente de antígeno	+	−	−	−	+	−
Se une a receptores Fc	+	−	−	−	−	+
Fija el complemento en presencia de antígeno	+	−	−	−	−	−
Tiene dominios V	+	+	+	+	+	−
Tiene dominios C	+	+	+	+	+	+

11. (a) AL. (b) ID. (c) IS. (d) AL. (e) No se formarán anticuerpos.

12.

	Antisuero de conejo contra el componente de anticuerpo de ratón				
	Cadena γ	Cadena κ	Fragmento Fab de IgG	Fragmento Fc de IgG	Cadena J
Cadena γ de ratón	Sí	No	Sí	Sí	No
Cadena κ de ratón	No	Sí	Sí	No	No
IgM entera de ratón	No	Sí	Sí	No	Sí
IgM/fragmento Fc de ratón	Sí	No	No	Sí	No

13. (a) Los dominios del pliegue de inmunoglobulina contienen alrededor de 110 residuos, que se disponen en dos láminas plegadas β antiparalelas, cada una compuesta por múltiples cadenas β separadas por asas cortas de diversas longitudes. Cada dominio del pliegue de Ig es estabilizado por un enlace disulfuro intradominio entre dos residuos conservados de cisteína separados por unos 60 residuos. (b) Se cree que la estructura del dominio del pliegue de Ig facilita las interacciones entre los dominios; es posible que estas interacciones entre dominios no homólogos permitan que diferentes miembros de la superfamilia de inmunoglobulinas se unan entre sí.

14. Las regiones hipervariables, también llamadas regiones determinantes de complementariedad (CDR), se localizan en las asas de los pliegues de inmunoglobulina que constituyen los dominios V_H y V_L. Hay tres regiones hipervariables en cada dominio V_H y tres en cada dominio V_L. Los residuos de las regiones hipervariables constituyen la mayor parte de los aminoácidos que participan en la unión con antígenos.

15. El valor más pequeño de la variabilidad se obtiene cuando el mismo aminoácido está siempre presente en la posición determinada y la variabilidad es 1 ($1/1 = 1$). El valor más grande de la variabilidad se obtiene cuando cualquiera de los 20 posibles monómeros de aminoácido aparece en la posición determinada con igual frecuencia (0.05). Variabilidad $= 20/0.05 = 400$.

16. El antisuero también contendría anticuerpos contra las cadenas ligeras κ y λ, que están presentes en todos los isotipos. Para elaborar un antisuero específico de IgG el investigador necesita reducir los enlaces disulfuro entre cadenas en la IgG del ratón con mercaptoetanol y aislar la cadena pesada. Los conejos inmunizados con las cadenas pesadas murinas solas serán específicos para el isotipo IgG.

17. (a) Cuatro sitios diferentes para unión a antígeno (indicados en negritas) y 10 moléculas de anticuerpo diferentes: H_SL_S/H_SL_S, H_mL_m/H_mL_m, H_sL_m/H_sL_m, H_mL_s/H_mL_s, H_sL_s/H_mL_m, H_sL_s/H_sL_m, H_sL_s/H_mL_s, H_mL_m/H_sL_m, H_mL_m/H_mL_s y H_sL_m/H_mL_s. (b) Dos sitios diferentes de unión a antígeno y tres moléculas distintas de anticuerpo: H_sL_s/H_sL_s, H_mL_s/H_mL_s, H_sL_s/H_mL_s. (c) Un sitio de unión y una molécula de anticuerpo: H_sL_s/H_sL_s.

18. (a) 3, 6, 10, 11. (b) 4. (c) 2, 9, 12. (d) 5. (e) 1, 3, 4, 7, 8, 11.

19. Es más probable que el anticuerpo forme enlaces cruzados con los receptores en la superficie celular, de lo que resulta el primer paso de la activación del receptor para este tipo de receptor con lo que se imita la acción del ligando. La incubación de la solución de anticuerpo monoclonal con la enzima papaína escindirá el anticuerpo de una manera que genera fragmentos Fab monovalentes. Los fragmentos Fab retienen la capacidad de unirse a receptores pero son incapaces de formar enlaces cruzados con ellos. El uso del fragmento Fab en el experimento revelará si el anticuerpo bloquea la unión del ligando al receptor.

20. Si una madre da el pecho al lactante, le transfiere muchos componentes inmunitarios. La IgA secretoria es el principal anticuerpo que se transmite por la leche. Otros componentes también ayudan al lactante en desarrollo a inhibir la proliferación bacteriana, incluidas citocinas, hormonas y enzimas.

Capítulo 5

Pregunta de enfoque clínico: Como se describe en el cuadro que acompaña al enfoque clínico, Zevalin es un anticuerpo monoclonal de ratón y Rituxan es un anticuerpo monoclonal humanizado. Este último tiene vida media prolongada en el ser humano y Zevalin tiene vida muy corta porque las personas eliminan muy pronto los anticuerpos de ratón. Como Zevalin se elimina del cuerpo unas cuantas horas después de inyectarlo, es difícil mantener dosis terapéuticas eficaces. Por otra parte, una sola dosis de Rituxan permanece en el cuerpo en niveles terapéuticos eficaces durante semanas. Sin embargo, si Rituxan se marca con un isótopo radiactivo, la radiación no se elimina del cuerpo sino que permanece por períodos prolongados y libera una dosis alta que puede ser nociva para el hospedador. En contraste, el anticuerpo monoclonal de ratón Zevalin puede usarse para llevar un radioisótopo a la población de células blanco y aplicar radiación durante un período lo bastante prolongado para matar muchas células tumorales, pero lo bastante corto para evitar una lesión grave por radiación en el hospedador.

1. (a) Falso: los segmentos génicos V_κ y C_1 se localizan en cromosomas separados y no pueden unirse durante el reordenamiento de genes. (b) Verdadero. (c) Verdadero. (d) Verdadero. (e) Verdadero. (f) Verdadero.

2. Los segmentos génicos V_H y J_H no pueden unirse porque ambos están flanqueados por secuencias señal de recombinación (RSS) que contienen un espaciador de 23 pares de bases (2 giros) (fig. 5-6b). Conforme a la regla de unión de un giro/dos giros, las secuencias señal que tienen un espaciador de dos giros sólo pueden unirse a secuencias señal que tengan un espaciador de un giro (12 pares de bases).

3. Cadenas ligeras: $500 \times V_L \times 4\ J_L = 2 \times 10^3$

Cadenas pesadas: $300\ V_H \times 15\ D_H \times 5\ J_H = 1.8 \times 10^4$

Moléculas de anticuerpo: (2×10^3 cadenas ligeras) × (1.8×10^4 cadenas pesadas) $= 3.6 \times 10^7$

4. (a) 1, 2, 3. (b) 3. (c) 3. (d) 5. (e) 2, 3, 4. (f) 2. (g) 5.

5. La mutación somática contribuye a la variabilidad de las tres regiones determinantes de complementariedad. La variabilidad adicional se genera en la CDR3 de las cadenas pesadas y ligeras por la flexibilidad de la unión, que ocurre durante los reordenamientos D-J y V-DJ de la cadena pesada y los reordenamientos V-J de la cadena ligera, por adición de nucleótido P en las uniones de región variable de las cadenas pesadas y ligeras, y por la adición de nucleótido N en las uniones D-J y V-DJ de la cadena pesada. Véase el cuadro 5-3.

6. (a) R: debió ocurrir el reordenamiento productivo del alelo 1 de la cadena pesada porque la línea celular expresa cadenas pesadas codificadas por este alelo. (b) G: la exclusión alélica impide que el alelo 2 de la cadena pesada presente reordenamiento productivo o no productivo. (c) NP: los genes κ se reordenan antes que los genes λ. Como la línea celular expresa cadenas ligeras λ, ambos alelos κ debieron sufrir un reordenamiento no productivo, lo que permite que ocurra el reordenamiento del gen λ. (d) NP: la misma razón que se expuso en (c). (e) R: debió ocurrir el reordenamiento productivo del alelo 1 de la cadena λ porque la línea celular expresa cadenas ligeras λ codificadas por este alelo. (f) G: la exclusión alélica impide que el alelo 2 de la cadena λ experimente reordenamiento productivo o no productivo (fig. 5-11).

7. El DNA de la cadena κ ha de tener la configuración de la línea germinal porque debe ocurrir un reordenamiento productivo de la cadena pesada antes que comience el reordenamiento del DNA de la cadena ligera (κ).

8. (a) No. (b) Sí. (c) No. (d) No. (e) Sí.

9. La adición aleatoria de nucleótidos N en las uniones D-J y V-DJ contribuye a la diversidad dentro de la CDR3 de las cadenas pesadas, pero este proceso puede ocasionar un reordenamiento no productivo si el marco de lectura de tripletas no se conserva.

10. Las uniones entre los segmentos génicos de la región variable (V_L-J_L y V_H-D_H-J_H) se producen en CDR3. Durante la formación de estas uniones, la flexibilidad de la unión, la adición de nucleótidos P y la adición de nucleótidos N introducen diversidad. Como estos procesos no afectan el resto de la región variable, CDR3 muestra la mayor diversidad.

11. Cuatro oportunidades (fig. 5-11).

12. (a) 5. (b) 5, 6, 9. (c) 1. (d) 4. (e) 2, 8. (f) 2, 11. (g) 3, 7. (h) 3, 10.

13. Como los anticuerpos de ratón se eliminan del sistema humano en poco tiempo, los anticuerpos terapéuticos antiidiotípicos provenientes del ratón son más eficaces si se humanizan; esto es, se emplea ingeniería genética para sustituir todas las secuencias de ratón, excepto los CER, por las secuencias de Ig humana. Es muy improbable que los linfomas de células B de distintos pacientes posean el mismo idiotipo. Por tanto ésta es una estrategia que tendría que repetirse para cada paciente con linfoma B en el que se aplicara.

14. (a) RNA. (b) RNA. (c) DNA. (d) DNA. (e) DNA.

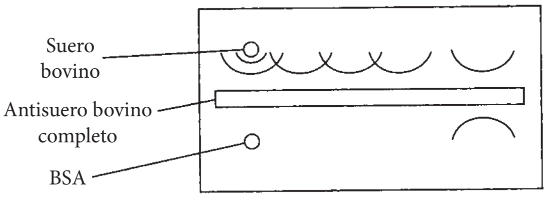
15. La especificidad de anticuerpo no se hereda de un progenitor. Es determinada a nivel del DNA por ordenamientos al azar del genoma que codifica la región de unión a antígeno del anticuerpo. Por tanto, la tendencia a producir IgE puede heredarse de un progenitor, pero la especificidad de las moléculas de IgE será determinada de modo distinto en cada individuo.

Capítulo 6

Pregunta de enfoque clínico: Las subpoblaciones de leucocitos y las leucemias suelen caracterizarse por la presencia de un ensamblaje distintivo de los marcadores de la superficie celular, y cada marcador tiene rasgos antigénicos diferentes de los otros. Los reactivos más versátiles y específicos para la detección y la caracterización de estos marcadores son los anticuerpos. La tecnología de anticuerpos monoclonales es el único método general a fin de obtener anticuerpos específicos para cada uno de los más de 200 antígenos diferentes que se encuentran en las superficies de varios tipos, poblaciones y subpoblaciones de leucocitos.

1. (a) Verdadero. (b) Verdadero. (c) Falso: la digestión con papaína produce fragmentos Fab monovalentes que no pueden formar enlaces cruzados con los antígenos. (d) Verdadero. (e) Verdadero. (f) Verdadero. (g) Verdadero. (h) Falso: las pruebas de aglutinación son más sensibles. (i) Falso: éstas suelen realizarse como pruebas cualitativas. Falso: la avidez de la interacción entre un anticuerpo B divalente y un antígeno con múltiples epítopos C podría ser tan alta como $(Ka)^2$.

2. (a) Suero bovino completo. (b) Véase la figura siguiente.



3. Botella A: H1-C1. Botella B: H2-C2. Botella C: H2-C1. Botella D: H1-C2.

4. a, c e i (pueden usarse ELISA cromógeno, RIA y ELISA por quimioluminiscencia para determinar la concentración de un hapteno).

5. (a) Aislar las cadenas pesadas de las proteínas del mieloma de isotipo conocido. Inmunizar conejos con las cadenas pesadas aisladas a fin de obtener antisuero para cada isotipo de cadena pesada. Absorber cada uno de estos antisueros de cadenas pesadas con todas las otras clases conocidas de cadenas pesadas para retirar cualquier isotipo de anticuerpo reactivo. Luego se identifica cuál de estos antisueros antiidiotípico reacciona con la proteína X de mieloma mediante ELISA. (b) El anticuerpo contra la proteína de mieloma se utiliza como base para el diseño de una prueba ELISA cuantitativa que permitiría medir el nivel de la proteína del mieloma en el suero.

6. (a) ELISA. (b) ELISA o RIA. (c) ELISA. (D) Inmunofluorescencia. (e) Aglutinación. (f) ELISA. (g) Aglutinación.

7. (b)

8. Afinidad se refiere a la fuerza de la interacción entre *un solo* sitio de unión con antígeno en un anticuerpo y el ligando correspondiente. Avidez designa la fuerza efectiva total de todas las interacciones entre *múltiples* sitios de unión con antígeno en un anticuerpo y múltiples epítopos idénticos en un antígeno complejo. Como a menudo las bacterias tienen múltiples copias de un epítopo particular en su superficie, la avidez de un anticuerpo es una mejor medida de su capacidad de combatir bacterias que la afinidad.

9. (a) Antisuero núm. 1 $K_0 = 1.2 \times 10^5$; antisuero núm. 2 $K_0 = 4.5 \times 10^6$; antisuero núm. 3 $K_0 = 4.5 \times 10^6$. (b) Cada anticuerpo tiene una valencia de 2. (c) Antisuero núm. 2. (d) El antisuero monoclonal núm. 2 sería el mejor porque reconoce un solo epítopo en la hormona y por tanto sería menos probable que el antisuero policlonal tuviera reacciones cruzadas con otras proteínas del suero.

10. (a) El tubo 1 contenía fragmentos $F(ab')_2$. Como estos fragmentos contienen dos sitios para unión con antígeno, pueden experimentar reacciones cruzadas y al final aglutinar los eritrocitos de oveja (SRBC). La activación del complemento por IgG requiere la presencia del fragmento Fc, que está ausente en los fragmentos $F(ab')_2$. (b) El tubo 2 contenía fragmentos Fab. Los fragmentos Fab univalentes pueden unirse a los SRBC e inhibir la aglutinación ulterior mediante anti-SRBC completo. (c) El tubo 3 contenía anticuerpo intacto. (d) El tubo 4 contenía fragmentos Fc. Estos fragmentos carecen de sitios de unión con antígeno, por lo que no pueden mediar las funciones efectoras del anticuerpo.

11. La reacción $S + L = SL$.

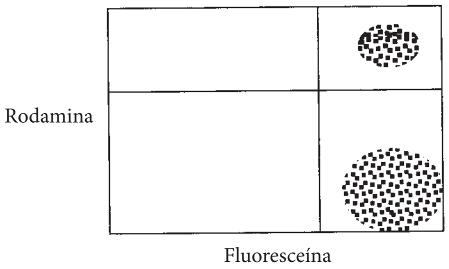
Escrita conforme a la ley de acción de masa $[SL]/[S][L] = K_a$

Sea $B = [SL]$ y $[S] = ([S_t] - [SL])$. Sustituyendo $B/[S_t - B]$ $F = K_a[S_t - B]$

12. (a) 2, 3, 4, 6. (b) Paciente 1: 1 000; paciente 2: sin título; paciente 3: 10; los pacientes 1 y 3 posiblemente se expusieron, dado que produjeron anticuerpos contra el Hantavirus. El paciente 2 no tiene título y por tanto no se expuso.

13. (a) Es necesario incubar las células con ambos anticuerpos primarios, enjuagarlas y luego incubarlas con los anticuerpos marcados secundarios. Luego se aplica la muestra al instrumento de modo que el material fluorocromático sea excitado por el láser y se desvíe en consecuencia.

(b) El cuadrante superior izquierdo contendría células que expresan altas concentraciones de receptor, y el cuadrante inferior derecho contendría células no transferidas o que expresan concentraciones bajas de receptor.



14. Un ELISPOT utiliza células vivas enteras y puede revelar cuántas células de una población expresan un antígeno soluble. Los tamaños relativos de las manchas también pueden dar una indicación de la cantidad de antígeno que se produce. En un ELISA en sándwich, sólo es posible determinar la cantidad de antígeno soluble; sin embargo, la determinación es cuantitativa y no cualitativa. En ambos ensayos, una placa se recubre con un anticuerpo de captura. En el ELISA en sándwich, la solución de antígeno se agrega sin células (p. ej., sobrenadante del cultivo); en el ELISPOT, las células secretoras de antígeno se agregan directamente a la placa. En ambos, el antígeno no unido se lava y se agrega el anticuerpo secundario marcado con enzima. En el ELISA en sándwich se usa un sustrato cromógeno soluble para la detección en un lector espectrofotométrico de placa. En el ELISPOT, el producto coloreado no debe ser capaz de difundirse desde la mancha, de modo que sea posible determinar visualmente el número de manchas.

Analice los datos: (a) Falso. El hapteno relacionado con NP, NIP fue inhibitorio a una concentración de 2×10^{-5} M. Por tanto, las células B tuvieron mayor afinidad por este hapteno que por NP, que requirió una mayor concentración, 3×10^{-4} M, para inhibir la unión de NP marcado. Cambios sutiles en los antígenos pueden mejorar o reducir la afinidad de un anticuerpo por ellos dependiendo del modo en que las modificaciones influyan en las fuerzas implicadas en la unión (p. ej., enlaces de hidrógeno, interacciones hidrófobas y fuerzas de van der Waals).

(b) Lo más probable es que haya ocurrido cambio de clase. Más probablemente el idiotipo específico para pNP-CGG fue IgM inmediatamente después de que las células B completaron su diferenciación. Sin embargo, en respuesta a las citocinas de célula T apropiadas, es probable que las células B hayan cambiado de clase, una hipótesis apoyada por los datos de la figura 2a, que muestra que la concentración de IgG se incrementó con el tiempo.

(c) Ocurrió mutación somática durante la inmunorreacción para permitir el ajuste fino de la especificidad de los receptores de célula B para pNP. Cuando el antígeno se hizo el reactivo limitante, ocurrió selección de clonas de células B con mayor afinidad, con el resultado de maduración de afinidad/mayor afinidad.

(d) Los reordenamientos de genes para cadenas ligeras κ fueron fallidos y dieron por resultado la selección de cadenas ligeras λ.

(e) La vinculación combinatoria de la misma cadena ligera con una cadena ligera distinta debe dar por resultado la expresión de un anticuerpo con idiotipo distinto.

Capítulo 7

Pregunta de enfoque clínico: Los defectos en componentes aislados de la vía del complemento pueden alterar la inmunidad a ciertos grupos de patógenos o algunas veces pueden causar una enfermedad inmunitaria compleja. En la mayor parte de los casos el pronóstico no pone en riesgo la vida y no se produce inmunodeficiencia grave porque hay mecanismos redundantes para enfrentar los patógenos usuales. Los defectos en los reguladores del complemento son graves porque el sistema del complemento tiene el poder de destruir células si no funcionan los limitantes de su actividad. En el caso de PNH (enfoque clínico), los eritrocitos del hospedador se destruyen porque los afectados carecen de moléculas de superficie celular (DAF y MIRL) que limiten la actividad del complemento sobre las células de la misma especie.

1. (a) Verdadero. (b) Verdadero. (c) Verdadero. (d) Verdadero. (e) Falso: los virus envueltos pueden destruirse por acción del complemento porque su envoltura externa proviene de la membrana plasmática de una célula hospedadora. (f) Verdadero.

2. La IgM del suero es una forma plana en la que los sitios para unión con el complemento de la región Fc no son accesibles. La IgM asume una conformación en la que los sitios para unión con el complemento quedan accesibles sólo después de unirse con un antígeno (fig. 7-4).

3. (a) La activación de la vía clásica no sería afectada. La activación de la vía alterna no ocurriría. La vía alterna se basa en la escisión espontánea de C3. (b) La depuración de inmunocomplejos disminuiría porque el fragmento de escisión C3b no estaría disponible para fijar inmunocomplejos a los eritrocitos vía CR1 para depuración en hígado y bazo. (c) La fagocitosis disminuiría por falta de unión de opsonina 3b a las superficies de las células bacterianas. (d) La presentación de antígenos disminuiría de manera indirecta debido a fagocitosis ineficiente de bacterias por macrófagos y otras APC fagocíticas.

4. Lisis de bacterias, virus envueltos y células por formación del complejo de ataque a membrana; opsonización de células invasoras para fomentar la fagocitosis; ataque de células recubiertas por células del sistema inmunitario que portan receptores del complemento, lo cual incrementa la reacción inflamatoria en el sitio de infección; depuración por inmunocomplejos al ofrecer sitios de unión para receptores de complemento en fagocitos y eritrocitos.

5. (a) Complejos inmunitarios que incluyen IgG o IgM inician la vía clásica o común, por lo general componentes de la pared celular bacteriana inician la vía alternativa y la unión de la lectina para unión con manosa (MBL) con los carbohidratos de la pared celular microbiana inicia la vía de la lectina. (b) Las secuencias de reacción inicial que generan la convertasa de C5 son las mismas, después del paso C1, para las vías clásica o común y de la lectina, pero difieren entre estas dos vías y la alterna. La secuencia terminal que va del C5b unido al MAC es la misma para las tres vías. Véase la figura 7-2. (c) La activación del complemento por cualquiera de las tres vías tiene las *mismas* consecuencias biológicas porque los componentes que median todos los efectos biológicos del complemento se generan en las tres vías.

6. (a) Puede ocurrir lisis de una célula inocente cercana cuando el C5b67 libre se une con las células sanas cercanas, inclusive eritrocitos. La unión de la proteína S al C5b67 libre previene su inserción en la membrana de los eritrocitos y otras células saludables. Además los eritrocitos contienen dos proteínas de membrana, el factor de restricción homólogo (HRF) y el inhibidor de membrana de la lisis reactiva (MIRL), que bloquean la secuencia terminal que conduce a la formación de MAC, lo que protege estas células de la lisis inespecífica mediada por el complemento. (b) En teoría un defecto en la proteína S, en el HRF unido a la membrana y en MIRL, o en las anclas de fosfolípido de la membrana que fijan HRF y MIRL a la superficie celular, podría aumentar la lisis de los eritrocitos mediada por complemento. La presencia de anclas de membrana defectuosas se relaciona con anemia hemolítica crónica en algunas personas.

7. Véase cuadro 7-2.

8. (a) 4. (b) 5. (c) 6. (d) 2. (e) 7. (f) 11. (g) 3. (h) 1. (i) 8. (j) 10. (k) 9. (l) 12.

9.

	Componente desactivado						
	C1q	C4	C3	C5	C6	C9	Factor B
Activación del complemento							
Formación de convertasa de C3 en la vía clásica	A	A	NE	NE	NE	NE	NE
Formación de convertasa de C3 en la vía alterna	NE	NE	A	NE	NE	NE	A
Formación de convertasa de C5 en la vía clásica	A	A	A	NE	NE	NE	NE
Formación de convertasa de C5 en la vía alterna	NE	NE	A	NE	NE	NE	A
Funciones efectoras							
Opsonización mediada por C3b	D	D	A	NE	NE	NE	D
Quimiotaxis de los neutrófilos	D	D	D	D	D	NE	D
Lisis celular	D	D	A	A	A	A	D

Capítulo 8

Pregunta de enfoque clínico: La deficiencia de TAP conduce a la falta de moléculas clase I en la superficie celular o un síndrome de linfocitos desnudos tipo I. Esto ocasiona una inmunodeficiencia parcial en la que es afectada la presentación de antígenos, pero existen células NK y células T γδ para limitar la infección vírica. La autoinmunidad se debe a la falta de moléculas clase I que emitan señales negativas a través de las moléculas del receptor inhibidor de células asesinas (KIR); las interacciones entre KIR y las moléculas clase I impiden que las células NK destruyan las células blanco. En su ausencia, las células propias se convierten en blanco del ataque autoinmunitario en las células cutáneas, lo que origina las lesiones que se observan en los pacientes con deficiencia de TAP.

El uso de tratamiento genético para curar a las personas afectadas por deficiencia de TAP se complica por el hecho de que los genes clase I se expresan en casi todas las células nucleadas. Como el producto de clase I está unido a la célula, cada célula deficiente debe repararse para contrarrestar los efectos de este problema. Por tanto, aunque la sustitución de un gen defectuoso sea una posibilidad teórica, aún queda el obstáculo de comprobar qué células pueden repararse mediante transfección del gen funcional para infundirlas de regreso al hospedador.

1. (a) Verdadero. (b) Verdadero. (c) Falso: las moléculas MHC clase III son proteínas solubles que no participan en la presentación de antígenos. Incluyen varios componentes del complemento, TNF-α, TNF-β y dos proteínas de golpe de calor. (d) Falso: los descendientes de padres heterocigotos heredan un haplotipo MHC de cada uno y por tanto expresan algunas moléculas que difieren de cada uno de los progenitores; por esta razón los padres y los hijos son histocompatibles. En contraste, los hermanos tienen una probabilidad en cuatro de ser histocompatibles (fig. 8-2c). (e) Verdadero. (f) Falso: la mayor parte de las células nucleadas expresan moléculas MHC clase I, pero las neuronas, las células placentarias y las espermáticas en ciertas etapas de diferenciación parecen carecer de moléculas de clase I. (g) Verdadero.

2. (a) Hepatocitos: clase 1 K^d, K^k, D^d, D^k, L^d y L^k. (b) Macrófagos: clase I: K^d, K^k, D^d, D^k, L^d y L^k. Clase II: $IA\alpha^k\beta^k$, $IA\alpha^d\beta^d$, $IA\alpha^k\beta^d$, $IA\alpha^d\beta^k$, $IE\alpha^k\beta^k$, $IE\alpha^d\beta^d$, y $IE\alpha^d\beta^k$.

3.

	Moléculas de MHC expresadas en la membrana de las células L transfectadas					
Gen transfectado	D^k	D^b	K^k	K^b	IA^k	IA^b
Ninguno	+	−	+	−	−	−
K^b	+	−	+	+	−	−
$IA\alpha^b$	+	−	+	−	−	−
$IA\beta^b$	+	−	+	−	−	−
$IA\alpha^b$ e $IA\beta^b$	+	−	+	−	−	+

4. (a) Los macrófagos SLJ expresan las siguientes moléculas MHC: K^s, D^s, L^s e IA^s. Por la deleción del locus IEα, estas células no expresan IE^s. (b) Las células transfectadas expresarían la molécula IE heteróloga, $IE\alpha^k\beta^s$, y una molécula IE homóloga, $IE\alpha^k\beta^k$, además de las moléculas listadas en (a).

5. Véanse las figuras 8-3, 4-6 y 4-25.

6. (a) Los residuos polimórficos se aglomeran en extensiones cortas, sobre todo dentro de los dominios distales de la membrana de las moléculas MHC clase I y clase II (fig. 8-10). Estas regiones forman la hendidura de unión con péptido de las moléculas de MHC. (b) Se cree que el polimorfismo de MHC surge por la conversión génica de secuencias de DNA cortas, casi homólogas dentro de los seudogenes no expresados en el MHC en genes clase I o clase II funcionales.

7. (a) La proliferación de las células T_H y la producción de IL-2 por ellas se detecta en la prueba 1, y la destrucción de las células blanco infectadas con LCM por los linfocitos T citotóxicos (CTL) se detecta en la prueba 2. (b) La prueba 1 es un ensayo funcional para las moléculas MHC clase II y la prueba 2 lo es para las moléculas clase I. (c) Las moléculas IA^k clase II son necesarias en la prueba 1, y las moléculas D^d clase I se requieren en la prueba 2. (d) Podrían transfectarse las células L con el gen IA^k y observarse la respuesta de las células transfectadas en la prueba 1. Asimismo podría transfectarse una muestra separada de células L con el gen D^d para determinar la respuesta de las células transfectadas en la prueba 2. En cada caso una respuesta positiva confirmaría la identidad de las moléculas MHC necesarias para la actividad específica para LCM de las células esplénicas. Como control en ambos casos, deberían transfectarse las células L con un gen diferente de MHC clase I o clase II para someterlas a la prueba apropiada. (e) Las células esplénicas inmunizadas expresan moléculas tanto IA^k como D^d. De

las cepas listadas, sólo A.TL y (BALB/c × B10.A) F_1 expresan estas dos moléculas MHC, por lo que éstas son las únicas cepas de las que pudieron aislarse las células esplénicas.

8. No es posible hacer una predicción. Como la hendidura de unión a péptidos es idéntica, ambas moléculas MHC deben unirse con el mismo péptido. Sin embargo, las diferencias de aminoácidos fuera de la hendidura podrían impedir el reconocimiento de la segunda molécula MHC por el receptor de célula T en las células T_C.

9. Si los eritrocitos expresaran las moléculas MHC, se requerirían pruebas extensas de tipificación antes de una transfusión sanguínea y sólo unos cuantos individuos serían donantes aceptables para un sujeto determinado.

10. (a) No. Aunque aquéllos con el haplotipo A99/B276 tienen un riesgo relativo mucho mayor, no hay una relación absoluta entre estos alelos y la enfermedad. (b) Casi todos los que presentan la enfermedad tienen el haplotipo A99/B276, pero según el gen o genes causantes exactos, es posible que esto no sea un requerimiento para el desarrollo de la enfermedad. Si el gen causante de la enfermedad se encuentra entre los loci A y B, entonces podrían observarse relaciones más débiles con A99 y B276. Si el gen se localiza fuera de las regiones A y B, y se vincula con el haplotipo sólo por relación con un fundador, entonces podría haber relaciones con otros genes MHC. (c) No es posible saber con qué frecuencia ocurrirá la combinación con respecto a la frecuencia de los dos alelos individuales; es difícil predecir un desequilibrio en el vínculo. Sin embargo, con base en los datos proporcionados, puede especularse que el vínculo con una enfermedad letal en individuos que no llegan a la edad reproductiva tendrá un efecto negativo en la frecuencia del haplotipo fundador. Una conjetura razonada sería que la combinación A99/B276 sería más rara de lo esperado con base en la frecuencia de los alelos A99 y B276.

11. Por convención, las células presentadoras de antígeno se definen como aquellas que pueden presentar péptidos antigénicos relacionados con moléculas MHC clase II y emitir una señal coestimulante a las células T_H $CD4^+$. Las células blanco presentan péptidos relacionados con las moléculas MHC clase I a las células T_C $CD8^+$.

12. (a) La restricción a MHC propio es el atributo de las células T que limita su respuesta a los antígenos relacionados con moléculas MHC propias en la membrana de células presentadoras de antígeno o células blanco. En general las células T_H $CD4^+$ se restringen a MHC clase II y las células T_C $CD8^+$ se limitan a MHC clase I, aunque existen algunas excepciones a este patrón. (b) El procesamiento de antígenos comprende la degradación intracelular de los antígenos proteínicos en péptidos que se relacionan con moléculas MHC clase I o clase II. (c) Los antígenos endógenos se sintetizan dentro de las células propias alteradas (p. ej., células infectadas por virus o células tumorales), se procesan por la vía citosólica y son presentados por moléculas MHC clase I a las células T_C $CD8^+$. (d) Las células presentadoras de antígeno internalizan los antígenos exógenos, los procesan por la vía endocítica y los presentan en moléculas MHC clase II a las células T_H $CD4^+$.

13. (a) EN: las moléculas clase I se relacionan con péptidos antigénicos y los presentan en la superficie de las células blanco a las células T_C $CD8^+$. (b) EX: las moléculas clase II se relacionan con los péptidos antigénicos y los presentan en la superficie de las células presentadoras de antígeno a las células T_H $CD4^+$. (c) EX: la cadena invariable interactúa con la hendidura de unión a péptido de las moléculas MHC clase II en el retículo endoplásmico rugoso, lo que impide la unión a péptido de los antígenos endógenos. También contribuye al plegamiento de las cadenas α y β clase II y al movimiento de las moléculas clase II del retículo endoplásmico rugoso a los compartimientos endocíticos. (d) EX: las hidrolasas lisosómicas degradan los antígenos exógenos en péptidos; estas enzimas también degradan la cadena invariante relacionada con las moléculas clase II, de manera que los péptidos y las moléculas MHC pueden relacionarse. (e) EN: TAP, una proteína transmembranal localizada en la membrana del retículo endoplásmico rugoso, media el transporte de los péptidos antigénicos producidos en la vía citosólica hacia la luz del retículo endoplásmico rugoso, donde se unen con moléculas MHC clase I. (f) B: en la vía endógena, las vesículas que contiene complejos de péptido con MHC clase I se mueven del retículo endoplásmico rugoso al complejo de Golgi y luego a la superficie celular. En la vía exógena, las vesículas que contienen la cadena invariante relacionada con las moléculas MHC clase II se mueven del retículo endoplásmico rugoso al aparato de Golgi y luego a los compartimientos endocíticos. (g) EN: los proteasomas son grandes complejos proteínicos con actividad de peptidasa múltiple que degradan las proteínas intracelulares dentro del citosol. Cuando se unen con LMP2 y LMP7, que se codifican en la región MHC, y con LMP10, no codificada en MHC, los proteasomas generan en forma preferencial péptidos que se unen con moléculas MHC clase I. (h) EX: las células presentadoras de antígeno internalizan los antígenos exógenos (externos) mediante fagocitosis o endocitosis. (i) EN: la calnexina es una proteína dentro de la membrana del retículo endoplásmico rugoso que actúa como carabina molecular, ayuda al plegamiento y la vinculación de las cadenas α clase I recién formadas y la microglobulina β_2 en heterodímeros. (j) EX: después de la degradación de la cadena invariable relacionada con una molécula MHC clase II, un pequeño fragmento llamado CLIP permanece unido con la hendidura de unión a péptido, tal vez para prevenir la carga prematura con péptidos de la molécula MHC. Al final el péptido antigénico desplaza la partícula CLIP. (k) EN: la tapasina (proteína relacionada con TAP) aproxima el transportador TAP a la molécula MHC clase I y permite que la molécula MHC adquiera un péptido antigénico (fig. 8-20).

14. (a) La cloroquina inhibe la vía de procesamiento endocítico, por lo que las células presentadoras de antígenos no pueden presentar péptidos derivados de un lisosoma nativo. El péptido lisosómico sintético se intercambia con otros péptidos relacionados con las moléculas clase II en la membrana de la célula presentadora de antígenos, de tal forma que la presenta a las células T_H e induce su activación. (b) El retraso en la adición de cloroquina brinda tiempo para la degradación de los lisosomas nativos en la vía endocítica.

15. (a) Células dendríticas: expresan de manera constitutiva tanto las moléculas MHC clase II como la señal coestimulante. Células B: expresan de manera constitutiva moléculas clase II, pero deben activarse antes de expresar la señal coestimuladora B7. Macrófagos: deben activarse antes de expresar moléculas clase II o la señal coestimulante B7. (b) Véase el cuadro 8-3. Muchas células presentadoras de antígeno no profesionales sólo funcionan durante las respuestas inflamatorias sostenidas.

16. (a) R. (b) R. (c) NR. (d) R. (e) NR. (f) R.

17. Aunque tanto HLA-DM como DO se codifican dentro del MHC y ambas son heterodímeros de cadenas α y β, difieren de las moléculas MHC clase II clásicas en que ninguna es polimórfica y ninguna se expresa en la superficie de la célula. HLA-DM y DO difieren entre sí en que DM se expresa en las mismas células que las moléculas de clase II clásicas, mientras que HLA-DO se expresa sólo en células B y en el timo. La expresión de DM es incrementada por interferón γ, que no influye en la expresión de DO. La función de DM es catalizar el intercambio intracelular de CLIP (péptido de cadena invariante relacionado con clase II) por un péptido antigénico. La función exacta de DO sigue siendo incierta, pero los datos disponibles sugieren que se une a DM y por tanto reduce la actividad de ésta.

18. (a) Las bacterias intracelulares, como los miembros de la familia *Mycobacterium*, son una fuente principal de antígenos no peptídicos; los antígenos observados en combinación con CD1 son lípidos y componentes glucolipídicos de la pared celular bacteriana. (b) Los miembros de la familiar CD1 se relacionan con microglobulina β_2 y tienen similitud estructural con las moléculas MHC clase I. No son moléculas MHC verdaderas porque no se codifican dentro del MHC y están en un cromosoma distinto. (c) La vía para el procesamiento de antígeno que toman las moléculas CD1 difiere de la que las moléculas MHC clase I toman. Una diferencia importante consiste en que el procesamiento antigénico CD1 no se inhibe en las células con deficiencia de TAP, mientras que las moléculas MHC clase I no pueden presentar antígeno en las células con deficiencia de TAP.

19. (b) El complejo TAP1-TAP2 se localiza en el retículo endoplásmico.

20. La descendencia debe haber heredado HLA-A 3, B 59 y C 8 de la madre. El varón 1 no puede ser el padre biológico porque, si bien comparte determinantes HLA con la progenie, los determinantes constituyen el mismo genotipo heredado de la madre. El varón 2 podría ser el padre biológico porque expresa los genes HLA expresados por la descendencia que no son heredados de la madre (A 43, B 54, C 5). El varón 3 no podría ser el padre biológico porque aunque comparte determinantes HLA con la descendencia, esos determinantes son los mismos genes heredados de la madre.

Analice los datos: (a) Sí. Comparando las cantidades relativas de moléculas L^d y L^q sin péptidos, hay aproximadamente la mitad de moléculas L^q abiertas que L^d. Los datos sugieren que las moléculas L^q forman complejos peptídicos menos estables que las L^d.

(b) La parte (a) de la figura muestra que 4% de las moléculas L^d normales no se unen a péptido MCMV, comparadas con 11% de las L^d que han experimentado una mutación de W a R. Así, al parecer hay ligero decremento de la unión de péptido a L^d. Es interesante el hecho de que la unión inespecífica de péptido aumenta varias veces después de la mutagénesis, con base en la baja cantidad de la forma abierta de L^d W97R (L^d mutada) en oposición a L^d nativa.

(c) La parte (b) de la figura muestra que 71% de las moléculas L^d no se unen al péptido tum$^-$ P91A14-22 después de una mutación de A a R, comparadas con 2% de las moléculas L^d naturales. Así, ocurre escasa unión de péptido tum$^-$ P91A14-22 después de una mutación de W a R.

(d) Inyectaría a un ratón que expresara L^d, porque sólo 2% de las moléculas de L^d serían formas abiertas después de la adición de péptido tum$^-$ P91A14-22 contra 77% de formas libres cuando se pulsan con péptido moléculas L^q. Por tanto, L^d presentaría mejor el péptido y tal vez activaría mejor las células T que L^q.

(e) Los residuos ancla conservados en los extremos del péptido se unen al MHC, permitiendo que la variabilidad en otros residuos influya en cuál receptor de célula T se unirá al complejo MHC clase I-antígeno.

Capítulo 9

Pregunta de enfoque clínico: Hay que probar las redisposiciones que afectan los genes de inmunoglobulina, así como las de genes del receptor de células T γδ para descartar un linfoma que afecte la proliferación de una célula B o célula T γδ. La población celular debe analizarse al microscopio para detectar la presencia de células atípicas. Si no se identifican redisposiciones en los genes de Ig o receptor de células T (TCR) y el número de células atípicas es normal, es posible que el crecimiento sea consecuencia de una respuesta inflamatoria y no de la proliferación de células cancerosas.

1. (a) Falso: la distancia entre CD4 y TCR es demasiado grande para que se precipiten juntos; sin embargo, CD3 y TCR están lo bastante cerca para precipitarse al mismo tiempo en respuesta al anticuerpo monoclonal contra CD3. (b) Verdadero. (c) Verdadero. (d) Falso: los genes de la región variable del TCR se localizan en diferentes cromosomas que los genes de la región variable de Ig. (e) Falso: todos los receptores de células T tienen un solo sitio de unión para los complejos MHC-péptido. (f) Falso: como la exclusión alélica no es completa para la cadena α de TCR, en ocasiones una célula T expresa dos cadenas α por la redisposición de ambos alelos de la cadena α. (g) Falso: los mecanismos son muy similares, pero los receptores de la célula T no generan diversidad mediante mutación somática como las inmunoglobulinas. (h) Verdadero.

2. Los genes αβ funcionales de TCR de una clona T_C específica para un hapteno en una célula blanco H-2^d se trasladaron a otra clona T_C específica para un segundo hapteno en una célula blanco H-2^k. Las pruebas de citólisis revelaron que las células T_C transfectadas mataron sólo las células blanco que presentaban el antígeno relacionado con el elemento de restricción de MHC original.

3. Véase la figura 9-3.

4. (a) CD3 es un complejo de tres dímeros que contiene cinco cadenas polipeptídicas diferentes. Es necesario para la expresión del receptor de célula T y participa en la transducción de señales a través de la membrana. CD3 y el receptor de célula T se relacionan para formar el complejo de membrana Cd3-TCR (fig. 9-9). (b) CD4 y CD8 interactúan con los dominios proximales de membrana de las moléculas MHC clase I y clase II respectivamente, lo que aumenta la avidez de interacción entre las células T y los complejos péptido-MHC. CD4 y CD8 también participan en la transducción de señales. (c) CD2 y otras moléculas accesorias (LFA-1, CD28 y CD45R) se unen con sus ligandos en las células presentadoras de antígeno o células blanco. Es posible que estas moléculas de adhesión celular medien el contacto inicial entre una célula T y la célula presentadora de antígeno o célula blanco. Más tarde el receptor de célula T interactúa con los complejos péptido-MHC. Estas moléculas también pueden funcionar en la transducción de señales.

5. (a) TCR. (b) TCR. (c) Ig. (d) TCR/Ig. (e) TCR. (f) TCR/Ig. (g) Ig.

6. (a) Las tres suposiciones fueron las siguientes. 1) El mRNA del TCR debe relacionarse con los polirribosomas unidos con la membrana, como los mRNA que codifican otras proteínas de membrana; por tanto el aislamiento de la fracción de mRNA unida a los polirribosomas enriquecería mucho la proporción de mRNA de TCR en los preparados. 2) Las células B y las células T expresarían muchos genes comunes y los mRNA únicos de células T incluirían los que codifican el receptor de la célula T; por ello la hibridación sustractiva con mRNA de célula B eliminaría todos los cDNA comunes a las células B y T, y dejaría sin hibridar el cDNA único de célula T. (3) Los genes de TCR presentan reordenamiento del DNA y por tanto pueden detectarse mediante Southern blotting con sondas de cDNA. Véase la figura 9-2. (b) Si quisieran identificar el gen de IL-4, deberían realizar hibridación sustractiva con una clona T_H como productora de IL-4 y una clona T_C como fuente de mRNA que carece del mensaje para IL-4. Además no se esperaría que el gen de IL-4 presentara reordenamiento, por lo que no podría identificarse mediante el análisis de Southern-blot para el reordenamiento génico.

7.

Producto génico	Fuente de cDNA	Fuente de mRNA
IL-2	A	B
CD8	C	A o B
Cadena J	E	F
IL-1	D	G
CD3	A, B o C	H

8.

Fuente de células esplénicas de ratones infectados con LCM	Liberación de ^{51}Cr de las células blanco infectadas con LCM			
	B10.D2 ($H\text{-}2^d$)	B10 ($H\text{-}2^b$)	B10.BR ($H\text{-}2^k$)	(BALB/C × B10)F_1 ($H\text{-}2^{b/d}$)
B10.D2 ($H\text{-}2^d$)	+	–	–	+
B10 ($H\text{-}2^b$)	–	+	–	+
BALB/c ($H\text{-}2^d$)	+	–	–	+
BALB/b ($H\text{-}2^b$)	–	+	–	+

9. Aunque los receptores de células T αβ y γδ tienen ciertas diferencias estructurales (fig. 9-2) y diferencias funcionales en el tipo de antígeno que reconocen, comparten el hecho de que ambas son moléculas de la superficie celular. Las inmunoglobulinas pueden ser receptores superficiales en las células B, pero su principal función es servir como mediadores solubles de inmunidad. No hay evidencia de actividad de formas solubles de los receptores de células T αβ o γδ.

10. Dos factores contribuyen a la alta frecuencia de células T aloreactivas: (1) la ausencia de selección negativa para TCR que reacciona con péptidos contenidos en las moléculas MHC extrañas y (2) la reactividad de TCR con las porciones expuestas de las moléculas MHC extrañas (no sometidas a selección negativa antes).

11. El tamaño global de la estructura determinada indicará de inmediato si es sólo TCR con un antígeno (en cuyo caso será un TCR γδ) o si hay una molécula compleja unida a él, indicando la presencia de una molécula MHC clase I o II. Si el TCR hace contacto con la molécula MHC a través de la región de unión a péptido, esto indica TCR αβ en vez de γδ, que hace contacto con moléculas MHC no clásicas a través de la cadena δ. Una característica importante que debe examinarse es el ángulo entre los dominios V (la porción que hace contacto con antígeno) y C del TCR. Esto determinará si el TCR es αβ (ángulo aproximado de 145 grados) o γδ (ángulo más cercano a 110 grados). La inclusión ya sea de CD4 con sus cuatro dominios globulares o de CD8 con dos indica si la molécula MHC unida es clase II o clase I. La región de contacto entre el TCR y el antígeno puede definir aún más si el antígeno está presente en un contexto de clase I o clase II. Suele haber más residuos de contacto entre TCR y clase II que con clase I.

12. Los ratones con el gen de la cadena α suprimido carecerán de reacciones de TCR αβ, pero la reacción γδ estará intacta. La pérdida de la cadena CD3 causa la pérdida completa de señalización desde el TCR αβ o el γδ.

13. Ambos receptores utilizan múltiples segmentos génicos, aunque hay más segmentos V que codifican el BCR que para el TCR (en especial para la cadena β). Hay disponibles segmentos D para la cadena β del TCR y para la cadena pesada del BCR. Pueden incluirse múltiples segmentos D en el TCR, pero sólo uno se incluye en la cadena pesada del BCR. Ambos receptores utilizan segmentos de cadena J, pero hay más de estos segmentos disponibles para el TCR. Asimismo, ambos receptores usan flexibilidad de unión y adición de nucleótidos P y nucleótidos N, aunque la adición de estos últimos puede ocurrir en ambas subunidades del TCR pero sólo en la cadena pesada del BCR. Una vez que se ha generado el TCR, no ocurren más cambios en la periferia. En contraste, el BCR puede experimentar hipermutación somática en la periferia, lo cual incrementa la afinidad de unión a antígeno durante una respuesta inmunitaria.

Capítulo 10

Pregunta de enfoque clínico: (a) La señalización mediada por Fas es importante para la regulación mediada por la muerte de las poblaciones linfocíticas en la homeostasis de los linfocitos. Esta regulación es esencial porque la inmunorreacción genera un aumento súbito y a menudo grande en las poblaciones de linfocitos que responden. La inhibición de la muerte celular mediada por Fas podría resultar en niveles de linfocitos en constante crecimiento con una cantidad final insostenible. El síndrome de Canale-Smith demuestra que sin la selección de linfocitos mediante apoptosis, podría ocurrir una enfermedad grave que pondría en peligro la vida.

(b) El análisis de las células T del paciente revela una gran cantidad de células doblemente negativas ($CD4^-$, $CD8^-$) y cifras aproximadamente iguales de células CD4$^+$ y CD8$^+$. Un sujeto normal tendría muy pocas células doblemente negativas (~5%) y más células CD4$^+$ que CD8$^+$. Véase el enfoque clínico de este capítulo.

1. (a) Los timocitos inmaduros expresan tanto CD4 como CD8, mientras que los timocitos CD8$^+$ maduros no expresan CD4. Para distinguir estas células se aplica una tinción doble a los timocitos con anti-CD4 y anti-CD8 marcados con material fluorocromático, y luego se analiza en un FACS. (b) Véase el cuadro siguiente.

Ratón transgénico	Timocitos inmaduros	Timocitos CD8$^+$ maduros
Hembra H-2^k	+	+
Macho H-2^k	+	–
Hembra H-2^d	+	–
Macho H-2^d	+	–

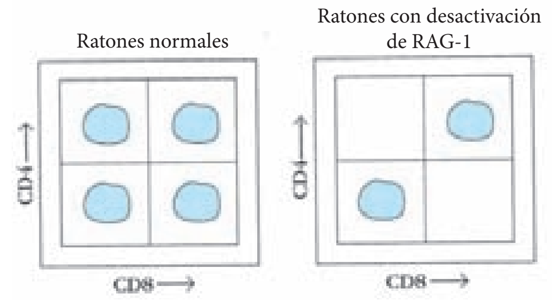
(c) Como el gen que codifica el antígeno H-Y se encuentra en el cromosoma Y, este antígeno no está presente en las hembras. Los timocitos que tienen receptor de célula T transgénico, restringido a H-2^k, sufrirían una selección positiva tanto en machos como en hembras H-2^k transgénicos. Sin embargo, la selección negativa ulterior eliminaría los timocitos que tienen el receptor transgénico, que es específico para el antígeno H-Y, en los machos H-2^k transgénicos (fig. 10-8). (d) Como los transgénicos H-2^d no expresarían las moléculas MHC apropiadas, las células T que tienen el receptor de célula T transgénico no sufrirían selección positiva.

2. La ciclosporina A bloquea la producción de NF-ATc, uno de los factores de transcripción necesarios para la proliferación de células T$_H$ activadas por antígeno.

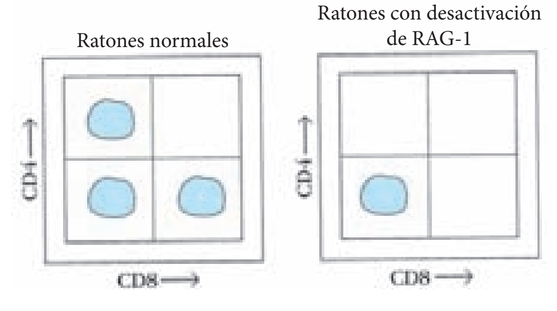
3. (a) NF-κB y NF-ATc. (b) Intensificador de IL-2.

4.

Timo



Ganglio linfático



5. (a) Moléculas clase I K, D y L, y moléculas clase II IA. (b) Sólo moléculas clase I. (c) Los ratones normales H-2^b deben tener células CD4$^+$ y CD8$^+$ porque tanto las moléculas MHC clase I como las clase II estarían presentes en las células estromales del timo durante la selección positiva. Los ratones H-2^b con desactivación del gen *IA* no expresarían moléculas clase II; por tanto estos ratones sólo tendrían células CD8$^+$.

6. (a) El donante de timo en el experimento A fue H-2^d (BALB/c) y en el experimento B fue H-2^b (C57BL/6). (b) El haplotipo del donante de timo determina la restricción a MHC de las células T en los ratones quiméricos. Por ello las células blanco H-2^b se destruyeron en el experimento B, en el que el donante de timo fue H-2^b. (c) las células blanco H-2^k no se destruyeron en ningún experimento porque ningún timo donante expresaba las moléculas MHC H-2^k; por tanto las células T H-2^k reactivas no se eliminaron en la selección positiva en los ratones quiméricos.

7. (a) Cinasas de proteína. (b) CD45. (c) B7. (d) IL-2. (e) CD28; B7. (f) CD8. (g) MHC clase II; B7. (h) CD4. (i) Fosfolipasa. (j) Cinasa de proteína. (k) CD28 estimula y CTLA4 inhibe.

8. (a) Como el receptor de células pre-T, que no se une con antígeno, se relaciona con CD3, las células que expresan el receptor de célula pre-T así como el receptor de célula T para unión con antígeno se teñirían con anti-CD3. Con este resultado es imposible determinar cuántas de las células teñidas con anti-CD3 expresan receptores de célula T completos. Las células restantes son timocitos aún más inmaduros que no expresan CD3. (b) No. Como algunas de las células que se tiñen con CD3 expresan el receptor de célula pre-T o el TCR αβ en lugar del TCR γδ completo, el número de células T$_C$ no puede calcularse mediante una simple sustracción. Para establecer el número de células T$_C$ se requiere anticuerpo fluorescente anti-CD8, que sólo tiñe las células T$_C$ CD8$^+$.

9. La participación del receptor de célula T activa la fosfolipasa C, que separa PIP$_2$ y libera diacilglicerol (DAG) e IP$_3$. DAG e IP$_3$ son segundos mensajeros potentes con efectos biológicos amplios. DAG activa la cinasa de proteína C e IP$_3$ libera calcio de las reservas intracelulares, lo que eleva la concentración intracelular de calcio. Los ésteres de forbol simulan los efectos del DAG y los ionóforos de Ca^{2+} pueden aumentar las concentraciones intracelulares de calcio al permitir que éste entre a la célula. Por consiguiente el tratamiento de las células con ionóforo de Ca^{2+} y un éster de forbol simula muchos de los efectos de la activación de las células T mediada por el receptor de célula T.

10. (1) Interacción entre una señal y su receptor. Ejemplo: interacción del receptor de célula T con péptido MHC$^+$. (2) Muchas señales se transducen a través de proteínas G. Ejemplo: las señales del TCR pueden activar las vías de transducción de señales mediadas por la pequeña proteína G Ras. (3) La generación de segundos mensajeros. Ejemplo: las señales del TCR pueden activar la cinasa de proteína C (PKC), que separa un fosfolípido de membrana para generar los segundos mensajeros diacilglicerol e IP$_3$. (4) Activación o inhibición de las cinasas y fosfatasas de proteína. Ejemplo: diacilglicerol e IP$_3$ generados en respuesta a las señales de TCR activan la PKC. (5) Ensamblaje inducido de los componentes de la vía. Ejemplo: la activación del péptido MHC$^+$ por el TCR fomenta la fosforilación de ITAM en subunidades del complejo TCR, lo que crea sitios de ensamblaje para el reclutamiento de ZAP-70, una tirosin-

cinasa proteínica clave del complejo de señalización de TCR. (6) Amplificación de señales por cascada enzimática. Ejemplo: inicio mediado por TCR de la cascada de cinasa de MAP de la vía Ras. (7) El ajuste predeterminado de una vía de transducción de señales se elimina. Ejemplo: a menos que el TCR se una con el péptido MHC^+, no hay señal mediada por el receptor de célula T.

11. *La transducción de señales comienza con la interacción entre una señal y su receptor.* La interacción entre el TCR y un antígeno de célula T, como un complejo MHC-péptido. *Muchas vías de transducción de señales implican el ensamblaje inducido por señal de algunos componentes de la vía; estos ensamblajes utilizan proteínas adaptadoras.* ZAP-70 fosforila proteínas adaptadoras LAT y SLP-76 en la señalización de TCR. *La recepción de señales a menudo conduce a la generación dentro de la célula de un "segundo mensajero"*, una molécula o un ion capaces de difundirse a otros sitios de la célula e inducir cambios metabólicos. DAG e IP3 funcionan como segundos mensajeros en la señalización de TCR. *Se activan o inhiben cinasas de proteína y fosfatasas de proteína.* ZAP-70 y p56^{Lck} funcionan como cinasas de proteína en los primeros pasos de la vía. La calcineurina funciona como fosfatasa, eliminando un fosfato de NFAT y permitiéndole transponerse al núcleo, donde actúa con NF-κB como activador transcripcional. *Las señales son amplificadas por cascadas enzimáticas.* Varias de éstas intervienen en la señalización de TCR. Entre ellas se incluyen las vías de cinasa PKC (cinasa de proteína C) y RAS/MAP.

12. Las células T γδ no requieren que el antígeno sea presentado por MHC. Por tanto, no se limitan al reconocimiento de antígenos proteínicos. El proceso de reconocimiento parece ser más parecido al de los receptores de reconocimiento de patrón presentes en las células del sistema inmunitario innato.

13. El encuentro con antígeno puede tornar anérgicas a las células T si reciben una señal a través del TCR (señal 1) pero no de CD28 (señal 2). En contraste, si las células T se unen a superantígenos, el TCR intervendrá sin importar la especificidad antigénica. La interacción es lo suficientemente estrecha para permitir que ocurran ambas señales, y se observa activación policlonal.

Capítulo 11

Pregunta de enfoque clínico: La inmunoglobulina humana purificada de cada donante es una muestra de la reacción de anticuerpo que el donante monta a cualquier estímulo inmunitario encontrado durante un período previo a la donación. En consecuencia, cuanto mayor sea la reserva de donantes, tanto mayor diversidad de anticuerpos presentes en los preparados de Ig humanas obtenidas de ellos habrá. Los preparados de anticuerpos con la mayor diversidad confieren protección contra el mayor espectro de agentes patógenos. Por tanto la mejor opción sería la fuente C, derivada de la mayor cantidad de donantes.

1. (a) Falso: el reordenamiento V_H-D_H-J_H ocurre durante la etapa de célula pro-B; la terminación exitosa del reordenamiento de la cadena pesada marca el inicio de la etapa de célula pre-B, en la que se expresan las cadenas μ unidas con la membrana. (b) Falso: las células B inmaduras sólo expresan IgM. (c) Falso: TdT, que cataliza la adición de nucleótido N, sólo se expresa en las células pro-B. (d) Verdadero. (e) Verdadero. (f) Falso: las células pro-B deben interactuar con las células estromales para evolucionar a células pre-B. La progresión de las células pre-B a células B maduras requiere IL-7 que se libera de las células estromales, pero no un contacto directo. (g) Verdadero. (Fig. 11-1.)

2. (a) Célula progenitora B: no presenta tinción citoplásmica ni de membrana con ningún reactivo. (b) Célula pre-B: tinción con anti-μ en el citoplasma y en la membrana. (c) Célula B inmadura: tinción con anti-μ en el citoplasma y en la membrana. (d) Célula B madura: tinción anti-μ y anti-δ en el citoplasma y la membrana. (e) Célula plasmática: tinción anti-μ en el citoplasma; sin tinción en la membrana, pero secreta IgG pentamérica.

3. El correceptor de la célula B consiste en tres proteínas de membrana: TAPA-1, CR2 y CD19; esta última pertenece a la superfamilia Ig. El componente CR2 puede unirse con el antígeno cubierto con complemento que está unido con el receptor de la célula B (BCR). Esta unión induce la fosforilación de CD19. Las tirosincinasas de la familia Src (Lyn y Fyn) se unen con Cd19 fosforilado y pueden iniciar las vías de transducción de señales que comienzan con la fosfolipasa C.

4. (a) Tanto los transgénicos sencillos como los dobles portaban el transgén anti-HEL. Como el transgén ya pasó por el reordenamiento, el reordenamiento de los genes de cadenas pesada y ligera de la inmunoglobulina no ocurren en las células pro-B y pre-B: por tanto la inmunoglobulina reordenada codificada por el transgén se expresa de preferencia en las células B maduras. (b) Se añade HEL con marca radiactiva y se utiliza la autorradiografía para ver si se une a la membrana de la célula B. Para identificar el isotipo del anticuerpo de membrana (mIg) en estas células B, se incuban las células con anticuerpos marcados con fluorocromo específicos para cada isotipo (p. ej., anti-μ, anti-δ) y se observa qué anticuerpos fluorescentes tiñen las células B. (c) Para que el transgén HEL pudiera inducirse con la adición de Zn^{2+} al suministro de agua del ratón. (d) Primero las células B y las células T de los ratones transgénicos dobles y los ratones singénicos normales deben separarse unas de otras. Esto puede hacerse mediante el tratamiento de un preparado de células esplénicas con un anticuerpo marcado con material fluorocromático que sea específico para CD3, el cual se expresa en la membrana de las células T, pero no de las B; luego se pasa el preparado tratado por FACS (fig. 6-15). Esto produce una fracción de células T y una fracción residual que contiene células B y otras células esplénicas. Después de tratar la fracción residual con anti-IgM marcado con fluorocromo, se pasa por un FACS para obtener una fracción de células B. Ahora se mezclan las células B transgénicas con las células T singénicas normales (muestra A) y las células T transgénicas con células B singénicas normales (muestra B). Ambas mezclas de células se transfieren a recipientes de transferencia adoptiva singénica radiados con rayos X, se prueban los recipientes con HEL y se determina si producen anticuerpos séricos anti-HEL. Si las células B son anérgicas, no ocurrirá una respuesta de anticuerpos en la muestra A.

5. (a) La activación de las células B con antígenos proteínicos solubles requiere la participación de las células T_H. El enlace cruzado de mIg en una célula B virgen con antígenos dependientes del timo establece una señal 1 de competencia; la unión ulterior de CD40 en la célula B con CD40L en una célula T_H activada establece la señal de competencia 2. El efecto combinado de estas señales impulsa la célula B de la etapa G_0 a la G_1 del ciclo

celular y regula en ascenso la expresión de los receptores para citocina en la célula B. La unión de citocinas derivadas de T_H emite luego una señal de progresión que estimula la proliferación de las células B activadas (fig. 11-12). (b) La unión de LPS, un antígeno tipo 1 independiente del timo, inicia las dos señales de competencia, 1 y 2 (fig. 11-5). La proliferación eficiente requiere una señal de progresión mediada por citocina.

6. (a) Zona clara. (b) Paracorteza. (c) Centroblastos; zona oscura. (d) Centrocitos; células dendríticas foliculares. (e) Zona clara; células T_H. (f) Zona clara. (g) Médula. (h) Células B de memoria; zona clara. (i) Centroblastos.

7. (a) Véase cuadro 11-2. (b) Antígenos T1.

8. (a) Cada molécula de mIg se relaciona con una molécula de un heterodímero llamado Ig-α/Ig-β que el receptor de la célula B (BCR) forma. Tanto Ig-α como Ig-β tienen colas citoplásmicas largas, capaces de mediar la transducción de señales al interior de la célula (fig. 11-8). (b) Señales de activación y diferenciación de células B —emitidas por unión con antígeno, interacción con células T_H o unión con citocinas— inician las vías de transducción de señales intracelular que al final generan factores de transcripción activos. Después éstos se trasladan al núcleo, donde estimulan o inhiben la transcripción de genes específicos (fig. 11-10).

9. (a) Los ratones receptores tenían un haplotipo distinto a H-2^b. (b) El propósito de estos experimentos consistía en observar el efecto de un antígeno propio, representado por K^b codificado por el transgén que sólo se expresa en la periferia. La unión del transgén K^b con un promotor específico del hígado aseguró que la molécula clase I K^b se expresara en la periferia, pero no en la médula ósea, donde las células B inmaduras podrían interactuar con él. (c) Estos resultados sugieren que la exposición a los antígenos propios en la periferia puede conducir a selección negativa y apoptosis (deleción clonal) en algunos casos (fig. 11-15).

10. (a) Verdadero. (b) Verdadero. (c) Verdadero. (d) Falso: la competencia antigénica disminuye la respuesta a los eritrocitos SRBC.

11. (a) Las etapas iniciales de la respuesta están dominadas por IgM. Aunque la afinidad promedio del anticuerpo producido es menor que la esperada durante una respuesta secundaria después de la prueba con el mismo antígeno, será más alta que la obtenida durante una respuesta primaria a una dosis alta del antígeno. (b) El anticuerpo tiende a ser IgG y de mayor afinidad que el obtenido durante una respuesta primaria a una dosis baja del antígeno. (c) La afinidad promedio del anticuerpo es menor que la obtenida durante la respuesta primaria a una dosis baja del antígeno. La mayor parte del anticuerpo formado durante las etapas iniciales de la respuesta es IgM. (d) La afinidad promedio del anticuerpo es más alta que la del anticuerpo formado durante una respuesta primaria a una dosis alta de antígeno, pero no siempre menor que la del anticuerpo formado en una respuesta primaria a dosis bajas. Tendrá menor afinidad promedio que el anticuerpo producido durante una respuesta secundaria a una dosis baja de antígeno. La mayor parte es IgG.

12. (a) La muestra B produce un solo fragmento de restricción con cada digerido característico de DNA de línea germinal sin reordenamiento. Por tanto esta muestra es de hepatocitos. (b) Los dos fragmentos obtenidos con el digerido *Bam*HI de la muestra C indican que ambos alelos de la cadena pesada están redispuestos, mientras que no hubo ningún reordenamiento de la cadena κ. Por tanto, esta muestra es de células pre-B de linfoma. (c) Las manchas obtenidas con la muestra A indican que un alelo de cadena pesada está reordenado, lo mismo que un alelo de cadena ligera. Este patrón indica que esta muestra es de células de mieloma productoras de IgM.

13. (a) Verdadero. (b) Falso: AP-1 es un factor de transcripción que, cuando es activado por una cascada de transducción de señales, se transpone al núcleo desde el citosol. (c) Verdadero. (d) Falso: el cambio de clase es una característica de la respuesta a antígenos dependientes del timo (TD), que ocurre a causa de interacciones con células T_H. Los antígenos independientes del timo pueden activar células B sin ayuda de células T colaboradoras, incluidas las interacciones que llevan al cambio de clase. (e) Falso: las células B maduran y se convierten en células efectoras en el ganglio linfático. (f) Falso: cuando las células B se transforman en células plasmáticas, la producción de inmunoglobulina de membrana cesa a favor de antígeno secretado, lo cual hace a las células plasmáticas arreactivas a la presencia de antígeno. (g). Verdadero.

14. (a) Cambio de clase. (b) IL-4. (c) VpreB; λ5. (d) Células plasmáticas.

Capítulo 12

Pregunta de enfoque clínico: Todas las citocinas mencionadas en esta pregunta aparecen en el cuadro que concluye la sección enfoque clínico de este capítulo. Abra un buscador de Internet y utilice el nombre del agente para encontrar la información del fabricante acerca del fármaco y sus efectos colaterales.

1. (a) Falso: el receptor para IL-2 de gran afinidad comprende tres subunidades: cadenas α, β y γ, todas las cuales son proteínas transmembranal. (b) Falso: el anticuerpo anti-TAC se une con la cadena α de 55 kDa del receptor para IL-2. (c) Falso: aunque todos los receptores de citocina clase I y clase II contienen dos o tres subunidades, los receptores para IL-1, IL-8, TNF-α, TNF-β y algunas otras citocinas sólo tienen una cadena. (d) Falso: los niveles bajos de la cadena β de IL-2R se expresan en las células T en reposo, aunque la expresión aumenta mucho después de la activación. La cadena α se expresa sólo en las células T activadas. (e) Falso: los dominios citosólicos de los receptores para citocinas clase I y II parecen estar muy relacionados con las tirosincinasas intracelulares pero no tienen actividad de tirosincinasa por sí mismas. (f) Verdadero.

2. Sólo proliferan las células T activadas por antígeno porque expresan el receptor IL-2 de gran afinidad, a diferencia de las células T en reposo que por eso no pueden reaccionar a IL-2.

3. Citocinas, factores de crecimiento y hormonas son proteínas secretadas que se unen con receptores en las células blanco, con lo que inducen efectos biológicos diversos. Las citocinas tienden a producirse en varios tipos celulares, aunque su producción se regula en forma estricta y ejercen sus efectos en varios tipos celulares; la mayor parte de las citocinas también actúan en forma autocrina o paracrina. A diferencia de las citocinas, los factores de crecimiento a menudo se producen de manera constitutiva. En contraste con las citocinas, las hormonas casi siempre actúan a larga distancia (efecto endocrino) sobre uno o unos cuantos tipos de células blanco.

4. (a) Cadena γ y cadena β (nivel bajo). (b) Cadenas α, β y γ. (c) Cadenas γ y β (nivel bajo); la ciclosporina A previene la activación génica que incrementa la expresión de las cadenas β y α. (d) Cadena γ y cadena β (nivel bajo). (e) Cadenas α, β y γ. (f) Cadenas β y γ.

5. (a) Los superantígenos se unen a las moléculas MHC clase II fuera de la hendidura normal de unión a péptido; a diferencia de los antígenos normales, no se internalizan y se procesan en células presentadoras de antígeno, pero se unen en forma directa con las moléculas MHC clase II. Los superantígenos también se unen con regiones del dominio V_β del receptor de célula T que no participan en la unión de péptidos antigénicos normales. Los superantígenos muestran especificidad por uno o unos cuantos dominios V_β; por tanto un superantígeno determinado puede activar todas las células T que expresen el dominio V_β para el que es específico, sin importar la especificidad antigénica de las células T. (b) Un superantígeno determinado puede activar 5 a 25% de las células T_H, lo que conduce a una producción excesiva de citocinas. Se cree que los altos niveles de citocinas causan los síntomas que acompañan a la intoxicación alimentaria y el síndrome de choque tóxico. (c) Sí. Para ejercer su efecto, los superantígenos deben formar un complejo ternario con una molécula MHC clase II y un receptor de célula T.

6. Los receptores para IL-3, IL-5 y GM-CSF contienen una cadena β común para transducción de señales. Es probable que la unión de citocinas con cada uno de estos receptores desencadene una vía similar de transducción de señales.

7. (a) El subgrupo T_H1 se encarga de las funciones clásicas mediadas por células (p. ej., hipersensibilidad tardía y activación de células T_C). Es probable que las infecciones víricas y los patógenos intracelulares induzcan una respuesta T_H1. (b) El subgrupo T_H2 funciona sobre todo como cooperador para la activación de células B. Es posible que este subgrupo sea el más adecuado para responder a las bacterias de vida libre y los helmintos parásitos, y además puede mediar reacciones alérgicas, ya que se sabe que IL-4 e IL-5 inducen la producción de IgE y la activación de eosinófilos respectivamente.

8. (a) Falso: si bien IL-6 incrementa la producción de proteínas de fase aguda, éstas son proinflamatorias y no desactivan la inmunorreacción. (b) Falso: las citocinas pueden actuar de manera autocrina (en las células que las secretan), y también actúan de maneras paracrina y endocrina. (c) Verdadero. (d) Falso: las células T_H1 secretan IFN-γ, IL-2 y TNF-β, que inducen la activación de macrófagos y una mayor producción de IgG en las células B. (e) Verdadero. (f) Falso: la activación de células T da por resultado la producción de IL-2 y su receptor, no de IL-1.

9. El cuadrante superior derecho. El receptor de afinidad intermedia se expresa en células del cuadrante superior izquierdo, y el receptor de baja afinidad se expresa en células del cuadrante inferior derecho. El cuadrante inferior izquierdo contiene células que no expresan el receptor de IL-2.

10. (a) 2, 7, (b) 4, 8. (c) 9. (d) 5. (e) 6. (f) 1, 3, (g) 3.

11. (a) IL-4. (b) Quimiocinas. (c) Proteínas G. (d) IL-7. (e) Ninguna concentración. (f) IFN-α.

12. (d)

13. (a), (b), (c), (d).

Capítulo 13

Pregunta de enfoque clínico: El proceso inflamatorio es esencial para brindar una defensa eficaz contra los patógenos. Un elemento clave de este proceso es la migración de leucocitos hacia los sitios de inflamación. La movilización de las poblaciones de leucocitos de la circulación depende de la adhesión celular mediada por integrina. CD18 es una subunidad de la integrina, y los defectos en esta molécula producen una falla en la función de la integrina. Véase en la figura 13-5 una presentación de la biología celular de la migración de leucocitos.

1. (a) Falso: varias quimiocinas son quimiotácticas para todos los tipos de leucocitos. (b) Falso: las integrinas se expresan en varios leucocitos, pero no en las células endoteliales. (c) Verdadero. (d) Verdadero. (e) Verdadero. (f) Falso: los efectos sistémicos, conocidos como reacción de fase aguda, son iniciados por citocinas generadas en la reacción inflamatoria aguda localizada. (g) Verdadero. (h) Falso: aunque pueden formarse granulomas en los sitios de infección crónica, es improbable que suceda durante una reacción inflamatoria aguda.

2. La expresión aumentada de las ICAM en las células endoteliales vasculares cerca de un sitio inflamado facilita la adhesión de los leucocitos a la pared de los vasos sanguíneos, lo que incrementa la migración de los leucocitos al área.

3. (a) Rodamiento, activación, paro y adhesión, y migración transendotelial (figs. 13-5a y 13-8). (b) Por lo general los neutrófilos se extravasan en sitios de inflamación porque se unen con las moléculas de adhesión celular que se inducen en el endotelio vascular en etapas tempranas de la reacción inflamatoria. (c) Diferentes subgrupos de linfocitos expresan receptores de direccionamiento que se unen a las moléculas de adhesión tisular específicas (adresinas vasculares) en los HEV de distintos órganos linfoides, en el endotelio inflamado o en vénulas en sitios terciarios. El direccionamiento de linfocitos particulares a ciertos sitios es facilitada por las quimiocinas que atraen de manera preferencial diferentes linfocitos. Por tanto, las diferencias en 1) adresinas vasculares, 2) receptores de direccionamiento y 3) quimiocinas y sus receptores determinan el patrón de recirculación de subgrupos particulares de linfocitos.

4. IL-1, IL-6 y TNF-α (cuadro 13-3).

5. El TNF-α liberado por los macrófagos tisulares activados durante una reacción inflamatoria aguda actúa en las células endoteliales vasculares y en los macrófagos, lo que induce la secreción de factores estimulantes de colonias (CSF), que estimulan la hematopoyesis en la médula ósea. Esto forma parte de la reacción sistémica de fase aguda.

6. (a) N. (b) 1. (c) N. (d) 3. (e) N. (f) 2. (g) 3. (Fig. 13-5.)

7. El IFN-γ estimula la activación de los macrófagos, lo que aumenta la expresión de las moléculas MHC clase II, la actividad microbicida y la producción de citocina. La acumulación de grandes cantidades de macrófagos activados es la causa de gran parte del daño tisular vinculado con la inflamación crónica. El TNF-α secretado por los macrófagos activados también contribuye al desgaste tisular frecuente en la inflamación crónica. Estas dos citocinas actúan en forma sinérgica para facilitar la migración de grandes cantidades de células a los sitios de inflamación crónica.

8. La unión de todas estas citocinas con sus receptores en los hepatocitos induce la formación del mismo factor de transcripción, NF-16, que estimula la transcripción de las proteínas de fase aguda.

9. (a) 7. (b) 1, 6. (c) 10, 11. (d) 2. (e) 8. (f) 4. (g) 10. (h) 9.
10. (a) Un defecto en el direccionamiento de linfocitos hacia tejidos mucosos. (b) Un defecto en el rodamiento de leucocitos. (c) Deficiencia de adhesión leucocítica, aumento de infecciones bacterianas.
11. (a) y (b) son concordancias correctas.
12. Trasplante de médula ósea, usando células madre aisladas del paciente, en el cual el gen defectuoso es sustituido por una copia funcional. De manera alternativa, trasplante de médula ósea de un donante compatible.
13. Los neutrófilos pueden unirse a la selectina P expresada con rapidez y a las bajas concentraciones de ICAM-1 expresadas de manera constitutiva en células endoteliales, mientras que los monocitos se unen a selectina E, ICAM-1 y VCAM en concentraciones más altas, que llegan a la superficie endotelial después de una demora debido al tiempo necesario para la síntesis de nueva proteína.
14. El sistema de cinina produce bradicinina, que incrementa permeabilidad vascular, dolor y contracción de músculo liso. La bradicinina también induce la formación de los componentes C5a y C5b de la cascada del complemento. Asimismo, el sistema de la coagulación produce mediadores que incrementan la permeabilidad vascular y citocinas proinflamatorias. El aumento de la permeabilidad vascular facilita el paso de líquidos y células al tejido, de lo que resultan los signos característicos de una reacción inflamatoria (dolor, tumefacción, enrojecimiento, calor). Es ventajoso para las células fagocíticas ser llamadas al sitio de lesión tisular, debido a la probabilidad de exponerse a bacterias invasoras.

Analice los datos: (a) Infección por bacterias gramnegativas. Hay LPS en la membrana externa de estas bacterias. (b) Con base en el aumento de la actividad de MPO en ratones de tipo silvestre a los que se inyecta LPS, es evidente que éste induce el reclutamiento de neutrófilos en el pulmón. La respuesta inflamatoria disminuye cuando el LPS se inyecta en ratones *5-LOX*$^{-/-}$, lo cual sugiere la participación de leucotrienos (un producto de la vía de la lipooxigenasa; fig. 13-12) en el reclutamiento de neutrófilos. (c) Leucotrieno B$_4$. (d) Los ratones con desactivación de 5′-lipooxigenasa tuvieron mayores niveles de inflamación en respuesta a LPS que los testigos no tratados, y menores que los ratones silvestres tratados con LPS. Por tanto, los neutrófilos son reclutados por factores aparte de productos de la vía de la lipooxigenasa, que podría incluir la activación del complemento por LPS y la producción de C5a, la inducción de IL-8, o la inducción de otras quimiocinas por LPS.

Capítulo 14

Pregunta de enfoque clínico: La artritis se caracteriza por inflamación articular que lleva a lesión, tumefacción y dolor del tejido. La artritis soriásica presenta lesiones cutáneas causadas por ataque autoinmunitario (soriasis). Es probable que la vinculación de combinaciones KIR/MHC con susceptibilidad a enfermedad artrítica surja de una deficiencia de señales inhibitorias (p. ej., ausencia de alelos MHC que producen ligandos inhibidores para moléclas KIR específicas), lo cual causa lesión de células y tejidos del hospedador. La diabetes es otra enfermedad autoinmunitaria; al exhibir destrucción de las células de los islotes pancreáticos productoras de insulina, los mismos mecanismos predichos para la artritis podrían operar en la diabetes. En ambos casos, la ausencia de señales de NK inhibitorias podría llevar a la lesión infligida por células NK, de manera directa o a través de su reclutamiento de otras células efectoras.

1. (a) Verdadero. (b) Verdadero. (c) Verdadero. (d) Falso: hay dos vías por las que las células T citotóxicas matan las células blanco. Una depende de la perforina, la otra utiliza el ligando FAS que el linfocito T citotóxico (CTL) presenta para inducir la muerte en las células blanco que expresan FAS.
2. El anticuerpo monoclonal contra LFA-1 debe bloquear la formación del conjugado CTL-célula blanco. Esto debe inhibir la destrucción de la célula blanco y por tanto disminuir la liberación de ^{51}Cr en la prueba de CML.
3.

Población 1	Población 2	Proliferación
C57BL/6 (H-2^{b})	CBA (H-2^{k})	1 y 2
C57BL/6 (H-2^{b})	CBA (H-2^{k}) Tratada con mitomicina C	1
C57BL/6 (H-2^{b})	(CBA × C57BL/6)F$_1$ (H-2$^{k/b}$)	1
C57BL/6 (H-2^{b})	C57L (H-2^{b})	Ninguno

4. (a) Células T$_H$ CD4$^+$. (b) Para demostrar la identidad de las células en proliferación deben incubarse con anticuerpo monoclonal anti-CD4 marcado con fluoresceína y anticuerpo monoclonal anti-CD8 marcado con rodamina. Las células en proliferación se tiñen sólo con el reactivo anti-CD4. (c) Como las células T$_H$ CD4$^+$ reconocen las moléculas MHC clase II alógenas en las células estimulantes, se activan y comienzan a secretar IL-2, lo que luego estimula la proliferación de la misma célula T$_H$. Por tanto la extensión de la proliferación mantiene una relación directa con el nivel de IL-2 producida.
5. (a) Ninguno. (b) Ambos. (c) CTL. (d) CTL. (e) Célula T$_H$. (f) CTL. (g) Célula T$_H$. (h) CTL. (i) Célula T$_H$. (j) Célula T$_H$. (k) Ambas. (l) Ambas. (m) Ambas. (n) Ambas. (o) Célula T$_H$. (p) Ninguna. (q) CTL. (r) Célula T$_H$.
6.

Origen de células esplénicas cebadas	Liberación de ^{51}Cr de las células blanco infectadas con LCM			
	B10.D2 (H-2^{d})	B10 (H-2^{b})	B10.BR (H-2^{k})	(BALB/c × B10)F$_1$ (H-2$^{b/d}$)
B10.D2 (H-2^{d})	+	−	−	+
B10 (H-2^{b})	−	+	−	+
BALB/c (H-2^{d})	+	−	−	+
(BALB/c × B10) (H-2$^{b/d}$)	+	+	−	+

7. Para determinar la actividad T_C específica para la gripe se realiza una reacción CML mediante la incubación de células esplénicas del ratón infectado con las células blanco singénicas infectadas con gripe. Para identificar la actividad T_H se incuban células esplénicas del ratón infectado con células presentadoras de antígeno singénicas que presenten péptidos de gripe; se mide la producción de interleucina 2.

8. Las células NK median la lisis de las células tumorales y las células infectadas por virus mediante la formación de poros inducida por perforina, como en los mecanismos empleados por los CTL. Las células NK son capaces de distinguir las células normales de las infectadas porque las normales expresan niveles relativamente altos de moléculas MHC clase I, que parecen protegerlas de las células NK. El equilibrio entre las señales positivas generadas por la participación de receptores activos (NKR-P1 y otros) en las células NK y las señales negativas inducidas por el reconocimiento de las moléculas MHC por receptores inhibidores, como CD94/NKG2 y la familia KIR en las células NK, regula la destrucción mediada por células.

9. (a-e) El resultado en todos los casos es la ausencia de lisis mediada por células T citotóxicas. Hay dos vías por las que las células T citotóxicas matan las células blanco, una que depende de la perforina y la otra que utiliza FasL para inducir la muerte en las células blanco que expresan Fas. Como ambas vías son inoperantes en los ratones doblemente desactivados, no hay citotoxicidad mediada por células T.

10. Si el tipo HLA se conoce, pueden usarse los tetrámeros unidos con el péptido generado a partir de gp120 y marcado con fluorescencia para etiquetar de manera específica todas las células T $CD8^+$ en una muestra que tenga receptores de célula T capaces de reconocer este complejo de péptido HLA^+.

11. (A) Verdadero. (b) Verdadero. (c) Verdadero. (d) Falso: la cascada de señales a partir de Fas recluta proteínas adaptadoras FADD, no proteínas G. (e) Verdadero. (f) Falso: FasL se expresa en las células que inducen apoptosis; la célula blanco expresa Fas.

12. (a) Se piensa que las células NK utilizan un mecanismo de señales opuestas para detectar células infectadas. Si una célula blanco potencial expresa concentraciones normales de moléculas MHC clase I, los receptores en la célula NK (KIR, CD94, NKG2) inducen una cascada de transducción de señales la cual indica que la célula blanco no debe ser destruida. Esto contrarresta las señales pro-matanza generadas vía ligandos que se unen a receptores activadores en la célula NK. En las células infectadas por virus con concentraciones disminuidas de MHC clase I, predomina la señal de receptores activadores.

    (b) El mecanismo de destrucción propio de las células NK es similar al de las células CTL. Aquéllas expresan FasL y contienen gránulos de perforina y granzima, lo cual las faculta para inducir la apoptosis en la célula blanco.

    (c) Se piensa que las células NK surgen de las mismas células progenitoras que las células T en la médula ósea pero al parecer no se desarrollan en el timo. Se desconoce el mecanismo exacto de la diferenciación de las células NK.

13. En la ADCC, las células que expresan receptores de Fc reconocen anticuerpo unido a la superficie celular. Idealmente, la célula a la que se une el Ab es una célula tumoral o infectada por virus. Si el antígeno unido por el anticuerpo se expresa en células normales, también serán atacadas células no infectadas. Neutrófilos, eosinófilos y macrófagos se unirán a células que expresan el antígeno y liberarán enzimas líticas, células NK y eosinófilos liberarán perforina, y macrófagos y células NK liberarán TNF. El resultado es muerte celular y lesión tisular, con la posibilidad de un trastorno autoinmunitario o hipersensibilidad tipo II.

Analice los datos: (a) Los epítopos 2, 12 y 18 generaron elevada actividad de CTL, y los epítopos 5 y 21 generaron actividad intermedia. (b) Es posible que diferentes péptidos usen distintos residuos ancla, lo cual haría la predicción más difícil. Sin embargo, si se supone que los mismos aminoácidos serían unidos por HLA-A2, parece ser que una leucina (L) en el lado amino terminal separada por cuatro aminoácidos de una treonina (T) es el único motivo en común para los cinco péptidos más inmunógenos (2, 12, 18, 5 y 21). Asimismo, todos los péptidos que generan alta actividad de CTL tienen dos leucinas consecutivas en el lado amino terminal. El problema con las treoninas que sirven como anclas es que el péptido 2 tiene cuatro aminoácidos en el lado carboxilo de la R, lo cual parece dar por resultado la terminación del péptido que se extiende desde el bolsillo de unión. Ésta sería una configuración muy peculiar. El péptido 12 podría tener un problema menos impresionante pero similar. Por tanto, una leucina en el bolsillo 2 de HLA-A2 sería consistente con los datos generados por Matsumura en 1992 (*Science* **257:**927). Así, el ancla principal podría ser un residuo leucina en el extremo amino del bolsillo de unión, con un posible aporte de T en el extremo carboxilo en algunas circunstancias. (c) Tal vez no haya células T específicas para esos péptidos, aunque estén presentes. Por tanto, no se observaría una respuesta de CTL. (d) Los CTL sólo reconocen antígeno en el contexto de moléculas MHC propias. Así, para poder detectar actividad de CTL, las células T2 también tendrían que expresar HLA-A2. (e) Las moléculas MHC clase I típicamente se unen a péptidos que contienen ocho a 10 residuos (fig. 8-7). El péptido 2 tiene 11 residuos de largo, lo cual sugiere que sobresale por la mitad cuando se une. Dado que parece ser un epítopo importante para la destrucción por CTL, es probable que esa protuberancia no interfiera en la interacción de CTL y que tenga un cometido útil.

Capítulo 15

Pregunta de enfoque clínico: El FcεRIβ es el receptor de gran afinidad para IgE. Se encuentra en los mastocitos, donde se une con IgE. Cuando un alergeno forma enlaces cruzados con IgE en la superficie de un mastocito, éste se activa y libera histamina. Por ello podría esperarse que las mutaciones que intensifican la interacción de FcεRIβ con IgE originen mastocitos más sensibles que se desgranulan con más facilidad. IL-4 es el causante, por lo menos parcial, del cambio de clase de Ig a IgE, lo que sugiere que las mutaciones en IL-4 que impulsan con más facilidad el cambio de clase a IgE también podrían participar en la predisposición genética al asma.

1. (a) Falso: IgE se incrementa. (b) Falso: IL-4 aumenta la producción de IgE. (c) Verdadero. (d) Falso: los antihistamínicos son útiles en la hipersensibilidad tipo I, que implica liberación de histamina por la desgranulación de mastocitos. Como la hipersensibilidad tipo III afecta sobre todo el depósito de inmunocomplejos, los antihistamínicos son ineficaces. (e) Falso: la mayor parte de los alergenos del polen contienen múltiples

componentes alérgicos. (f) Falso: a diferencia de IgG, la IgE no puede pasar a través de la placenta. (g) Verdadero. (h) Verdadero. (i) Verdadero. (j) Falso: las células T_H1 son activas en la hipersensibilidad tipo IV y producen citocinas que activan macrófagos. (k) Verdadero. (l) Verdadero. (m) Verdadero. (n) Falso: se piensa que las inyecciones repetidas de alergenos (hiposensibilización) causan el cambio a una respuesta T_H1, de modo que se produce IgG en vez de IgE.

2. (a) Los anticuerpos completos establecerían enlaces cruzados con las moléculas FcεRI en la membrana de los mastocitos y los basófilos, lo que conduce a su activación y desgranulación. Los mediadores liberados inducirían vasodilatación, contracción del músculo liso y una reacción local con ronchas y enrojecimiento. Como el fragmento Fab es monovalente, no puede establecer enlaces cruzados con la molécula FcεRI, por lo que no induce la desgranulación. Sin embargo, este tipo de anticuerpo antirreceptor podría unirse con FcεRI y bloquear la unión de IgE con los receptores. (b) La respuesta inducida por los anticuerpos completos anti-FcεRI no depende de la IgE contra alergenos específicos, por lo que sería similar en ratones alérgicos y no alérgicos. La inyección de fragmentos Fab de anti-FcεRI podría prevenir la reacción de los ratones alérgicos a un alergeno si estos fragmentos bloquean la unión de IgE con los mastocitos y los basófilos.

3. Producir anticuerpos monoclonales quiméricos contra veneno de serpiente mediante ingeniería genética que contengan regiones variables de ratón, pero regiones constantes de las cadenas pesada y ligera humanas (fig. 5-23).

4. (a) Hipersensibilidad tipo I: reacción atópica localizada que se debe a la formación de enlaces cruzados entre el alergeno y la IgE fija en los mastocitos de la piel, lo que induce desgranulación y liberación de mediador. (b) Hipersensibilidad tipo III: se forman inmunocomplejos de anticuerpo y antígenos de insecto que se depositan en forma local, lo que ocasiona una reacción tipo Arthus por la activación del complemento y los productos de la división del complemento. (c) Hipersensibilidad tipo IV: las células T_H sensibilizadas liberan sus mediadores, lo que induce la acumulación y la activación de macrófagos. El daño tisular se debe a las enzimas lisosómicas liberadas por los macrófagos.

5. (a) IV. (b) Los cuatro tipos. (c) I y III. (d) IV. (e) I. (f) II. (g) I. (h) I. (i) II, (j) II. (k) I.

6. La respuesta se muestra en el siguiente cuadro.

	Hipersensibilidad			
Suceso inmunitario	Tipo I	Tipo II	Tipo III	Tipo IV
Desgranulación de mastocitos mediada por IgE	+			
Lisis de células sanguíneas cubiertas con anticuerpo por efecto del complemento		+		
Destrucción tisular en respuesta al zumaque venenoso				+
Desgranulación de mastocitos mediada por C3a y C5a		(un poco)	+	
Quimiotaxis de neutrófilos			+	
Quimiotaxis de eosinófilos	+			
Activación de macrófagos por IFN-γ				+
Depósito de complejos antígeno-anticuerpo en las membranas basales de los capilares			+	
Muerte súbita por colapso vascular (choque) poco después de la inyección o ingestión del antígeno	+			

7. Las células B de memoria generadas durante un embarazo previo (sensibilización) se activan para secretar IgG anti-Rh, que cruza la placenta y se une a eritrocitos fetales. Es posible que se active el complemento en la superficie de éstos, de lo que resulta su lisis.

8. Los inmunocomplejos tienden a acumularse en los capilares, causando inflamación y lesión tisular ulterior.

9. (a) 1. (b) 5. (c) 2. (d) 3. (e) 7. (f) 6. (g) 4.

10. La fase temprana del asma se caracteriza por desgranulación de mastocitos y liberación de mediadores inflamatorios como histamina, leucotrieno C4 y prostaglandina D2. Las consecuencias son hipersensibilidad tipo I localizada de los pulmones, con aumento en la secreción de moco, vasodilatación y broncoconstricción. La reacción de fase tardía se caracteriza por infiltración de otros leucocitos, típica de la inflamación crónica. Entre las manifestaciones se incluyen presencia de eosinófilos, linfocitos y neutrófilos en el espacio aéreo y liberación de mediadores propios de una reacción tipo T_H2, como PAF, IL-4, IL-5, factor quimiotáctico de eosinófilos, factor quimiotáctico de neutrófilos, TNF-α y LTC_4. Las consecuencias para el pulmón son inflamación localizada, lesión y pérdida de células epiteliales, fibrosis de la membrana basal, y pérdida de función.

11. RhoGam; eritroblastosis fetal.

Analice los datos: (a) Ésta es una reacción de hipersensibilidad tipo I mediada por IgE. Las infecciones por helmintos a menudo se vinculan con reacciones de hipersensibilidad tipo I. (b) La histamina es un componente importante de los mastocitos y gránulos basófilos humanos y se libera durante la desgranulación de los basófilos. A falta de un ensayo para histamina, es posible medir otros mediadores primarios como heparina, serotonina o diversas proteasas, o secundarios como leucotrienos, factor activador de plaquetas o TNF. (c) IgE. Este isotipo se une a la superficie de basófilos y células cebadas, donde induce desgranulación y activación celular. (d) Basófilos y mastocitos se unen a IgE. Cuando se introduce el antígeno, en este caso antígeno de *Brugia malayi*, los basófilos forman enlaces cruzados con FcRI e inducen la desgranulación. La formación de enlaces cruzados induce descenso de cAMP, flujo de calcio desde los depósitos extracelulares e intracelulares, activación de tirosincinasas, fosforilación de fosfolipasa C, y una serie de reacciones bioquímicas que dan por resultado la activación celular. (e) Se esperarían eosinófilos en la reacción de fase tardía, reclutados en la zona por la secreción de factor activador de plaquetas, leucotrienos, factor quimiotáctico de eosinófilos y otros mediadores. (f) Induce una reacción de IgE. Ésta se une a mastocitos y basófilos para hacer a la persona "sensible" al antígeno de *Brugia malayi*. (g) Ésta sería una reacción T_H2. IL-4 induce stat6, que promueve el cambio de clase en las células B para que transcriban IgE. La activación de Stat6 ejerce realimentación negativa en la activación de la transcripción de citocinas tipo 1 como IFN-γ. Por tanto, puede predecirse que las reacciones de IFN-γ disminuirán.

Capítulo 16

Pregunta de enfoque clínico: Las observaciones de que las mujeres establecen inmunorreacciones más robustas que los varones y que estas respuestas tienden a ser más similares a T_H1 explica en parte las diferencias de género en la susceptibilidad a la autoinmunidad. Como el tipo T_H1 de respuesta fomenta la inflamación, esto puede intensificar el desarrollo de autoinmunidad.

1. El proceso llamado tolerancia central elimina linfocitos con receptores que exhiben afinidad por autoantígenos en el timo o la médula ósea. Un linfocito autorreactivo puede escapar a la eliminación en estos órganos linfoides primarios si el autoantígeno no es hallado ahí o si la afinidad por éste es menor que la necesaria para activar la inducción de la muerte apoptósica. Se impide que los linfocitos autorreactivos que escapan a la eliminación por tolerancia central dañen al hospedador por medio de la tolerancia periférica, que implica tres estrategias principales: inducción de la muerte celular por apoptosis, inducción de anergia (un estado de falta de respuesta), o inducción de una población específica de antígeno de células T reguladoras que mantiene bajo control las células autorreactivas.

2. La tolerancia es necesaria para eliminar linfocitos B y T autorreactivos. Sin tolerancia, que puede definirse como falta de respuesta a un antígeno, podrían resultar autoinmunidad o autorreactividad masivas.

3. La edición de receptor es un proceso por el cual las células B (pero no las células T) intercambian la región V potencialmente autorreactiva de la inmunoglobulina por otro gen V, con lo que cambian la especificidad de antígeno y evitan la autorreactividad.

4. (a) 6. (b) 8. (c) 10. (d) 9. (e) 12. (f) 7. (g) 3. (h) 11. (i) 2. (j) 1. (k) 5. (l) 4.

5. (a) La EAE se induce mediante la inyección de ratones o ratas con proteína básica de mielina en coadyuvante completo de Freund. (b) Los animales que se recuperan de EAE son resistentes a EAE. Ya no desarrollan EAE si se les aplica una segunda inyección de la proteína básica de mielina en coadyuvante completo de Freund. (c) Si las células T de los ratones con EAE se transfieren a ratones singénicos normales, los ratones desarrollan EAE. Véase la figura 16-11.

6. Ya se demostró que varios virus tienen proteínas que comparten secuencias con la proteína básica de la mielina (MBP). Como los péptidos encefalitógenos de la MBP ya se conocen, es posible probar estos péptidos para determinar si tienen homología de secuencia con las secuencias proteínicas víricas conocidas. El análisis por computadora reveló varios péptidos víricos que tienen homología de secuencia con los péptidos encefalitógenos de la MBP. La inmunización de conejos con estas proteínas víricas indujo EAE. Los estudios de péptidos encefalitógenos de la MBP mostraron que diferentes péptidos inducían EAE en distintas cepas. Por tanto, el haplotipo de MHC determina qué péptidos víricos con reacciones cruzadas se presentan y, por consiguiente, influye en el desarrollo del trastorno.

7. (1) Un virus podría expresar un determinante antigénico que experimente reacciones cruzadas con un componente propio. (2) Una infección vírica podría inducir concentraciones localizadas de IFN-γ. Después el IFN-γ podría inducir la expresión inapropiada de moléculas de MHC clase II en células no presentadoras de antígeno, lo que permite a los péptidos propios presentarse junto con las moléculas MHC clase II en estas células para activar las células T_H. (3) Un virus podría dañar un órgano, lo que produciría la liberación de antígenos que en condiciones normales son secuestrados del sistema inmunitario.

8. (a) Para que el transgén de IFN-γ se exprese sólo en las células β del páncreas. (b) Hubo infiltración celular de linfocitos y macrófagos similar a la que se observa en la diabetes tipo 1. (c) El transgén de IFN-γ indujo a las células β del páncreas a expresar moléculas MHC clase II. (d) Una infección vírica localizada en el páncreas podría inducir la producción localizada de IFN-γ en las células T activadas. Después el IFN-γ podría inducir la expresión inapropiada de moléculas MHC clase II en las células β del páncreas, así como la reducción de otras citocinas como IL-1 o TNF. Si los péptidos propios se presentan con las moléculas de MHC clase II, IL-1 podría proporcionar la señal coestimuladora necesaria para activar las células T contra los péptidos propios. Una alternativa es que el TNF también cause daño celular localizado. Véase la figura 16-13.

9. Los anticuerpos monoclonales anti-CD4 se utilizan para bloquear la actividad T_H. Se intentó el uso de anticuerpos monoclonales (anti-TAC) específicos para el receptor de gran afinidad para IL-2 a fin de bloquear las células T_H activadas. La relación de algunas enfermedades autoinmunitarias con la expresión restringida del receptor de células T llevó a los investigadores a utilizar un anticuerpo monoclonal específico para los receptores de células T que tienen dominios V particulares. Por último, en modelos de EAE se probaron anticuerpos contra alelos MHC específicos vinculados con un mayor riesgo de autoinmunidad.

10. (a) Verdadero. (b) Falso: IL-12, que promueve el desarrollo de células T_H1, aumenta la respuesta autoinmunitaria a MBP más coadyuvante. (c) Falso: la presencia de HLA B27 tiene una relación importante con la susceptibilidad a la espondilitis anquilosante, pero no es el único factor necesario para el desarrollo de la enfermedad. (d) Verdadero. (e) Verdadero.

11. (a) 5; 1. (b) 1; 3; 4. (c) 1; 3. (d) 1; 2; 3.

12. La activación de los componentes tempranos del componente lleva a la formación de C3b, que se une a CR1 en los eritrocitos para eliminar inmunocomplejos de la sangre. Los inmunocomplejos son llevados a hígado y bazo, donde se separan de los eritrocitos y se degradan. La activación del complemento en pacientes que carecen de C1, C4 o CR1 puede inducirse a través de la vía alterna o la de MBL.

13. (a) La activación de células B policlonales puede ocurrir como resultado de infección por bacterias gramnegativas, citomegalovirus o EBV, que induce la proliferación inespecífica de células B; algunas células B autorreactivas pueden ser estimuladas en este proceso. (b) Si se exponen antígenos que normalmente son secuestrados, también pueden estimularse células T autorreactivas. (c) La inmunorreacción contra un virus puede ser cruzada con antígenos celulares normales, como en el caso del mimetismo molecular. (d) El aumento en la expresión de moléculas TCR no debe inducir autoinmunidad; no obstante, si la expresión no es regulada en el timo, podrían producirse células autorreactivas. (e) Se ha observado aumento de la expresión de moléculas MHC clase II en IDDM y enfermedad de Graves, lo cual sugiere que la presentación inapropiada de antígeno podría estimular células T autorreactivas.

14. (a) 1. Falso. 2. Falso. 3. Falso. 4. Verdadero. (b) 100. (c) Los tres podrían usarse para verificar este experimento.

Capítulo 17

Pregunta de enfoque clínico: El animal ideal a fin de producir órganos para el xenotrasplante tendría un tamaño corporal equivalente al del ser humano y podría modificarse genéticamente para eliminar cualquier antígeno que cause rechazo agudo. Estaría libre de cualquier enfermedad que pudiera transmitirse a personas. La prueba de órganos debe incluir trasplante a primates no humanos y períodos de observación lo bastante largos para comprobar que el órgano conserva toda su función en el nuevo hospedador y que no se transmite ninguna enfermedad.

1. (a) Falso: el rechazo agudo es mediado por células y es probable que implique el mecanismo de rechazo de primera intención (figs. 17-1b y 17-7). (b) Verdadero. (c) Falso: los leucocitos pasajeros son células dendríticas del donante que expresan moléculas MHC clase I y niveles altos de moléculas MHC clase II. Migran del tejido injertado a los ganglios linfáticos regionales del receptor, donde las células inmunitarias del hospedador responden a los aloantígenos que llevan. (d) Falso: un injerto compatible en cuanto a los antígenos mayores de histocompatibilidad, codificados en HLA, puede rechazarse por las diferencias en los antígenos menores de histocompatibilidad codificados en otros loci. (e) Verdadero.

2. (a) Los pozos oscuros indican que las células han captado el pigmento y son positivas para el antígeno. El donante 2 tiene compatibilidad perfecta con el receptor en todos los antígenos ensayados, y por tanto sería la primera opción. (b) El donante 1 sería una segunda opción aceptable, dado que sólo hay discordancia en un antígeno. (c) El donante 4 es incompatible en los antígenos HLA-A y HLA-DR ensayados y sólo es compatible en un antígeno HLA-B. Los donantes 1 y 3 son incompatibles ambos en un antígeno; sin embargo, el 3 lo es con un antígeno HLD-DR, que es una molécula MHC clase II. Las incompatibilidades de MHC clase II tienen mayor probabilidad de desembocar en rechazo de injerto que las de clase I. Por tanto, el donante 1 tiene menor probabilidad de ser rechazado. (d) Debe hacerse una reacción de linfocitos mixtos en un sentido para determinar la compatibilidad.

3. En el cuadro adjunto se presenta la respuesta.

4. (a) La enfermedad de injerto contra hospedador se desarrolla conforme las células T reconocen aloantígenos en las células de un hospedador con inmunosupresión. La reacción se desarrolla cuando las células T_H del donante se activan en respuesta a los complejos MHC-péptido del receptor que las células presentadoras de antígeno presentan. Las citocinas producidas por estas células T_H activan varias células efectoras, inclusive células NK, linfocitos T citotóxicos y macrófagos, que dañan el tejido del hospedador. Además, las citocinas como TNF pueden mediar daño citolítico directo en las células del hospedador. (b) La enfermedad de injerto contra hospedador se desarrolla cuando el tejido u órgano donado contiene linfocitos inmunocompetentes y cuando el hospedador está inmunosuprimido. (c) El órgano o tejido donado podría tratarse con anticuerpos monoclonales contra CD3, CD4 o el receptor de alta afinidad para IL-2 a fin de disminuir las células T_H del donante. La justificación de esta técnica es reducir la activación de células T_H en respuesta a los aloantígenos del hospedador. El uso de anti-CD3 elimina las

Donante	Receptor	Respuesta	Tipo de rechazo
BALB/c	C3H	R	Rechazo de primera intención
BALB/c	Rata	R	Rechazo de primera intención
BALB/c	Ratón lampiño	A	
BALB/c	C3H, se sometió a un injerto BALB/c previo	R	Rechazo de segunda intención
BALB/c	C3H, se sometió a un injerto C57BL/6 previo	R	Rechazo de primera intención
BALB/c	BALB/c	A	
BALB/c	F_1 (BALB/c × C3H)	A	
BALB/c	F_1 (C3H × C57BL/6)	R	Rechazo de primera intención
(BALB/c × C3H) F_1	BALB/c	R	Rechazo de primera intención
(BALB/c × C3H) F_1	BALB/c, se sometió a un injerto F_1 previo	R	Rechazo de segunda intención

células T; el uso de anti-CD4 elimina todas las células T_H; el uso de anticuerpo contra el receptor de IL-2 sólo elimina las células T_H activadas.

5. (a) El hermano C es el mejor donante potencial con base en la concordancia del grupo sanguíneo ABO y todos los antígenos MHC clase I. (b) El hermano A es el mejor donante según lo señala la baja respuesta proliferativa a MLR de un sentido con el receptor. Este resultado indica que los antígenos clase II concuerdan con los del receptor. Según estas pruebas, se elegiría al hermano A como donante porque los antígenos clase II son más importantes para determinar la posibilidad de rechazo.

6. El empleo de CTLA4 soluble o anticuerpo contra el ligando de CD40 para promover la aceptación de los aloinjertos se basa en la necesidad de una célula T para la señal coestimuladora cuando se une con su receptor. Incluso cuando la célula T del receptor reconoce el injerto como ajeno, la presencia de CTLA4 o anti-CD40L impedirá que la célula T se active porque no recibe una segunda señal mediante el receptor de CD40 o CD28 (fig. 17-9). En lugar de activarse, las células T estimuladas en presencia de estas moléculas bloqueadoras se vuelven anérgicas. La ventaja de usar CTLA4 o anti-CD40L solubles consiste en que estas moléculas afectan sólo las células T que participan en la reacción contra el aloinjerto. Estas células T específicas para el injerto se vuelven anérgicas, pero la población general de células T permanece normal. Las medidas inmunosupresoras más generales, como el uso de CsA o FK506, causan inmunodeficiencia y susceptibilidad a la infección.

7. La azatioprina es un inhibidor de la mitosis usado para bloquear la proliferación de células T específicas de injerto. Ciclosporina A y FK506 bloquean la activación de células T en reposo al interferir en una vía de transducción de señales que lleva al ensamblaje del factor de transcripción NFAT. La rapamicina inhibe la activación de células T_H al interrumpir el ciclo celular. Idealmente, si el rechazo temprano se inhibe previniendo una reacción de células T específicas, éstas pueden tornarse tolerantes al injerto con el paso del tiempo. Es deseable reducir la dosis del fármaco para aminorar los efectos secundarios a largo plazo.

Capítulo 18

Pregunta de enfoque clínico: La inmunoglobulina específica para virus de la viruela bovina (VIG) se obtiene de individuos inmunizados con dicho virus, con el cual se elabora la vacuna contra la viruela para uso humano. En años anteriores, cuando la vacunación contra la viruela era usual, la VIG se obtenía colectando suero de individuos inmunizados; a causa de la suspensión de la vacunación contra la viruela, el suministro actual de VIG es bajo. La VIG es muy eficaz porque la viruela bovina se elimina de manera muy eficiente mediante anticuerpo.

1. (a) Porque las células blanco infectadas expresaban moléculas MHC H-2^k, pero las células T cebadas estaban restringidas a H-2^b. (b) Porque la nucleoproteína de gripe se procesa mediante una vía endógena y los péptidos resultantes se presentan en moléculas MHC clase I. (c) Es probable, porque la molécula D^b clase I transfectada sólo puede presentar péptido 365-380 y no péptido 50-63. Una alternativa es que el péptido 50-63 no sea un epítopo de célula T. (d) Estos resultados sugieren que sería más probable que un cóctel de varios péptidos inmunógenos fuera presentado por distintos haplotipos de MHC en humanos y proporcionarían las mejores vacunas para seres humanos.

2. Las defensas inespecíficas del hospedador incluyen células epiteliales ciliadas, sustancias bactericidas en las secreciones mucosas, productos de la división del complemento activados por la vía alterna que sirven como opsoninas y como factores quimiotácticos, y células fagocíticas.

3. Las defensas específicas del hospedador incluyen IgA secretoria en las secreciones mucosas, IgG e IgM en los líquidos tisulares, la vía clásica del complemento, los productos de la división del complemento, las opsoninas (IgM, IgG y C3b) y las células fagocíticas. Las citocinas que se producen durante la inmunoreacción específica, incluidas IFN-γ, TNF, IL-1 e IL-6, contribuyen a la intensidad general de la reacción inflamatoria.

4. El anticuerpo humoral alcanza su nivel máximo en unos cuantos días después del inicio de la infección y se une con la glucoproteína HA de la gripe, lo que bloquea la infección vírica de las células epiteliales del hospedador. Como el anticuerpo es específico para la cepa, su principal función es proteger contra una nueva infección por la misma cepa de gripe.

5. (a) Los tripanosomas africanos son capaces de presentar cambios antigénicos en la glucoproteína de superficie variante (VSG). Los cambios antigénicos se producen cuando los segmentos génicos que codifican partes de la VSG se duplican y transponen a sitios con expresión activa en la transcripción. (b) *Plasmodium* evade el sistema inmunitario mediante cambios continuos en la maduración de esporozoíto a merozoíto y gametocito, lo que permite que el organismo cambie sus moléculas de superficie de manera continua. Además, las fases intracelulares de su ciclo vital disminuyen el nivel de activación inmunitaria. Por último, el microorganismo puede desprenderse de su cubierta de circunesporozoíto después que el anticuerpo se una a ésta. (c) El agente de la gripe puede evadir la inmunorreacción mediante cambios antigénicos frecuentes en sus glucoproteínas hemaglutinina y neuraminidasa. Los cambios antigénicos se realizan mediante la acumulación de pequeñas mutaciones puntiformes (deriva antigénica) o la redistribución genética de RNA entre los viriones de gripe de humanos y animales (cambio antigénico).

6. (a) IA^b. (b) Porque las células T_H con restricciones MHC y para antígenos específicos participan en la activación de las células B.

7. (a) BCG (bacilo de Calmette-Guérin). (b) Cambio antigénico; deriva antigénica. (c) Conversión génica. (d) Tubérculos; células T_H; macrófagos activados. (e) Toxoide. (f) Interferón α; interferón γ. (g) IgA secretoria. (h) IL-12; interferón γ.

8. La mayoría de las infecciones micóticas prevalentes en la población general no causa enfermedad grave y son enfrentadas por mecanismos de inmunidad innata. Las infecciones micóticas problemáticas se ven más a menudo en quienes presentan alguna forma de inmunodeficiencia, como los pacientes con VIH/SIDA o los inmunosuprimidos como medida terapéutica.

9. Una posible razón para el surgimiento de patógenos nuevos es el hacinamiento de las poblaciones más pobres del mundo en

sitios muy pequeños en ciudades enormes, porque la densidad de población aumenta la diseminación de la enfermedad. Otro factor es el aumento en los viajes internacionales. Otras características de la vida moderna que pueden contribuir incluyen la distribución masiva de alimento, que expone a grandes poblaciones a alimentos con contaminación potencial y la preparación poco higiénica de éstos.

10. El principal factor que contribuye a la rápida diseminación del virus del SARS es la prevalencia de los viajes internacionales. La enfermedad fue llevada por un médico desde China continental a Hong Kong, donde varios huéspedes del mismo hotel la contrajeron y llevaron a sus respectivos destinos.

11. (a) El virus de la gripe cambia la expresión superficial de neuraminidasa y hemaglutinina. (b) El virus del herpes permanece latente en células nerviosas. Su ulterior activación puede causar brotes de fuego labial o zoster (por virus de la varicela). (c) *Neisseria* secreta proteasas que escinden la IgA. (d) Falso. (e) Varias bacterias grampositivas resisten la lisis mediada por complemento. (f) El virus de la gripe acumula mutaciones de un año a otro. (g) Falso.

12. Los epítopos superficiales de *Treponema* son estructuralmente similares a los epítopos de *Borrelia*, lo que causa la reacción cruzada de anticuerpos y resultados falsos positivos. Se han desarrollado pruebas más nuevas con anticuerpos contra epítopos que son específicos de *Borrelia*.

13. (a) No, la IgE se produce contra alergenos, no contra enfermedades infecciosas. (b) No, las células T autorreactivas sólo son activadas por infecciones intracelulares. Los enunciados (c) a (f) son correctos.

14. (a) Células granulares grandes como mastocitos y eosinófilos. También participarán neutrófilos y macrófagos. (b) Citocinas como IL-4, IL-5 e IL-3 ayudarían a impulsar la reacción T_H1 ya en marcha; sin embargo, las citocinas terapéuticas para conducir la reacción hacia el tipo T_H2 podrían ser más benéficas para la inmunidad a plazo más largo.

Capítulo 19

Pregunta de enfoque clínico: Cualquier conexión entre la vacunación y una reacción adversa ulterior debe valorarse mediante pruebas clínicas válidas que incluyan cantidades suficientes de sujetos en el grupo control (los que reciben placebo) y en el grupo experimental (los que reciben la vacuna). Esto es necesario para realizar una valoración correcta desde el punto de vista estadístico de los efectos de la vacuna contra otras posibles causas del efecto adverso. Estos estudios clínicos deben realizarse como doble ciego; es decir, ni los sujetos ni los investigadores deben saber quién recibe la vacuna y quién recibe el placebo sino hasta el final del período de observación.

En el ejemplo citado, es posible que el fenómeno adverso (aumento en la incidencia de artritis) se deba a una infección que ocurre al mismo tiempo que se aplica la nueva vacuna. Quizá no sea posible identificar la causa precisa de este efecto colateral, pero los estudios apropiados de las poblaciones vacunadas y control sí permiten comprobar si la causa es la vacuna.

1. (a) Verdadero. (b) Verdadero. (c) Verdadero. (d) Falso: como las vacunas de DNA permiten la exposición prolongada al antígeno, es probable que generen memoria inmunitaria. (e) Verdadero. (f) Falso: una vacuna de DNA contiene el gen que codifica un antígeno proteínico completo, el cual es muy probable que contenga múltiples epítopos.

2. Como los microorganismos atenuados proliferan de manera limitada en las células hospedadoras, se procesan por la vía citosólica y se presentan en la membrana de las células hospedadoras no infectadas junto con las moléculas MHC clase I. Por tanto, estas vacunas casi siempre pueden inducir una inmunoreacción mediada por células. La reproducción limitada de los microorganismos atenuados dentro del hospedador a menudo elimina la necesidad de aplicar dosis de refuerzo de la vacuna. Además, si el microorganismo atenuado es capaz de multiplicarse sobre las mucosas, la vacuna puede inducir la producción de IgA secretoria. La principal desventaja de las vacunas de microorganismos completos atenuados es que pueden revertirse a la forma virulenta. También son más inestables que otros tipos de vacunas, por lo que requieren refrigeración para mantener su actividad.

3. (a) La antitoxina se administró para desactivar cualquier toxina que pudiera producirse en caso que *Clostridium tetani* infectara la herida. La antitoxina era necesaria porque la niña no se había inmunizado antes y en consecuencia no tenía anticuerpo circulante contra la toxina del tétanos ni células B de memoria específicas para la toxina del tétanos. (b) Por el tratamiento con antitoxina, la niña no desarrollará inmunidad contra el tétanos después de la primera lesión. Por ello, después de la segunda lesión, tres años más tarde, necesitará otra dosis de antitoxina. Para desarrollar inmunidad prolongada debe vacunarse con toxoide tetánico.

4. La vacuna Sabin para polio es atenuada, mientras que la vacuna Salk es desactivada. Por tanto, la vacuna Sabin tiene las ventajas usuales de una vacuna atenuada en comparación con una desactivada (véase respuesta 2). Además, si la vacuna Sabin es capaz de cierta multiplicación limitada en el conducto gastrointestinal, induce la producción de IgA secretoria. La vacuna Sabin atenuada puede causar infección potencialmente letal en personas como niños con SIDA cuyo sistema inmunitario está gravemente suprimido.

5. Las cepas del virus usado para las vacunas de administración nasal son mutantes termosensibles que no pueden proliferar a la temperatura del cuerpo humano (37°C). El virus vivo atenuado puede proliferar en las vías respiratorias superiores para inducir inmunidad, pero no en las vías respiratorias inferiores para causar gripe.

6. Los epítopos de células T casi siempre son péptidos internos, que a menudo contienen una alta proporción de residuos hidrófobos. En contraste, los epítopos B se localizan en la superficie de un antígeno, donde se encuentran accesibles al anticuerpo, y contienen una alta proporción de residuos hidrófilos. En consecuencia, es más probable que los péptidos hidrófobos sintéticos representen epítopos de célula T e induzcan una reacción mediada por células, mientras que es más probable que los péptidos hidrófilos sintéticos representen epítopos accesibles de células B y den origen a una respuesta de anticuerpos.

7. Cuando la mayor parte de una población es inmune a un patógeno particular —es decir, hay inmunidad de grupo—, la probabilidad de que unos cuantos miembros susceptibles de la población entren en contacto con un individuo infectado es

muy baja. Por tanto, no es probable que los individuos susceptibles se infecten con el patógeno. Si la cantidad de sujetos inmunizados disminuye lo suficiente, casi siempre por un descenso en los índices de vacunación, la inmunidad de grupo ya no opera para proteger a los individuos susceptibles y la infección puede diseminarse con rapidez en una población, lo que causa una epidemia.

8. En esta situación hipotética el gen puede clonarse en un sistema de expresión y la proteína se expresa y purifica para probarla como vacuna proteínica recombinante. Una alternativa es clonar el gen en un vector plásmido que pueda inyectarse de manera directa y probarse como vacuna de DNA. El uso del gen clonado como vacuna de DNA es más eficiente porque elimina los pasos necesarios para producir la proteína y purificarla. Sin embargo, el plásmido que contiene el gen para el antígeno protector debe purificarse de manera adecuada para usarlo en pruebas con seres humanos. Las vacunas de DNA tienen mayor capacidad de estimular tanto la rama humoral como la celular del sistema inmunitario que las vacunas de proteínas, y por ello pueden conferir una inmunidad más completa. La elección también debe considerar el hecho de que el empleo de vacunas de proteína recombinante está muy difundido, pero las vacunas de DNA para uso humano aún están en las fases iniciales de prueba.

9. Los patógenos con período de incubación corto (p. ej., virus de la gripe) causan síntomas de enfermedad antes que la respuesta de las células de memoria se induzca. La protección contra tales patógenos se logra mediante inmunizaciones repetidas para mantener niveles altos de anticuerpo neutralizante. Para los patógenos con un período de incubación más largo (p. ej., virus de la polio), la respuesta de las células de memoria es lo bastante rápida para prevenir el desarrollo de síntomas y no se necesitan niveles altos de anticuerpo neutralizador al momento de la infección.

10. Polisacáridos de la cápsula bacteriana, exotoxinas bacterianas desactivadas (toxoides) y antígenos proteínicos de superficie. Los últimos dos a menudo se producen mediante tecnología de DNA recombinante. Además está en evaluación el uso de moléculas de DNA para dirigir la síntesis de antígenos con la inmunización.

11. Los anticuerpos para vacunación pasiva se unen a receptores de Fc en las células B maternas, lo cual impide que las células B Rh$^+$ se activen y produzcan anticuerpos contra el feto en desarrollo. De este modo, la vacuna protege al neonato contra el ataque del sistema inmunitario materno.

12. Una posible pérdida de inmunidad de grupo en la población. Incluso en una población de niños vacunados, un pequeño porcentaje de ellos pueden tener inmunidad disminuida a la enfermedad específica debido a diferencias en la expresión de moléculas MHC en la población, siempre que exista un reservorio para la enfermedad. Además, la mayoría de los individuos vacunados, si se exponen a la enfermedad, adquirirá una forma leve de ésta. La exposición de individuos no vacunados a alguna fuente del patógeno los pondrá en riesgo de afección grave. Las epidemias en poblaciones de adultos tendrían consecuencias más graves, y la mortalidad infantil por estas enfermedades aumentaría.

13. (a) 1 o 2. (b) 2. (c) 3. (d) 4. (e) 1, (f) 2, (g) 2.

Analice los datos: (a) Las vacunas de pSG5DNA-Bcl-xL con calreticulina (CRT) y LAMP-1 son las más eficaces para inducir las células T CD8$^+$ a producir IFN-γ. La vacuna de pSG5DNA-Bcl-xL con HSP70 también activó células T CD8$^+$. Sin embargo, el constructo pSG5 sin el gen antiapoptosis con CRT también indujo una considerable reacción de células T CD8$^+$. (b) La calreticulina es una proteína carabina molecular relacionada con moléculas MHC clase I parcialmente plegadas en el retículo endoplásmico. Unir el antígeno E7 a la carabina podría fomentar la carga de moléculas MHC clase I con E7, lo cual haría al antígeno más accesible para las células T una vez expresado en la superficie celular. (c) Las vacunas de DNA coinyectadas con pSG5DNA-Bcl-xL fueron eficaces para inducir células T CD8$^+$, posiblemente porque la expresión de genes antiapoptósicos en células dendríticas permitió a aquéllas sobrevivir más y presentar antígeno a células T por un mayor tiempo. Cuanto más largo el lapso durante el que presentan antígeno, tanto más tiempo reacciona el hospedador para producir células T específicas de antígeno. (d) Los datos de la figura b indican que en ausencia de células T CD4$^+$ colaboradoras (en ratones con desactivación del gen para CD4), ocurre activación ineficaz de células T CD8$^+$. Por tanto, la ayuda de las células T es necesaria para activar la respuesta CD8; al dirigir el antígeno contra MHC II, se activan de modo más eficiente las células T colaboradoras. El constructo Sig/E7/LAMP-1 fue necesario porque la mayoría de los antígenos presentados por moléculas MHC II es procesada por la vía endocítica, y el constructo Sig/E7/LAMP-1 dirige antígeno al aparato de Golgi, donde los péptidos E7 pueden ser intercambiados con CLIP e insertados en moléculas MHC II. (e) Células T colaboradoras (reacción deficiente en los ratones con desactivación de CD4), células dendríticas longevas (la inmunización con pSG5DNA-Bcl-xL mejora la respuesta) y conducción del antígeno hacia MHC II (la inmunización con el constructo Sig/E7/LAMP-1 es la única que induce una reacción de células T CD8$^+$).

Capítulo 20

Pregunta de enfoque clínico: Antes de poder administrar nevirapina a todas las madres antes del parto, es necesario saber que el beneficio de este tratamiento sobrepasa el riesgo. El beneficio del fármaco, según lo muestran los estudios ya terminados, es que disminuye mucho la transmisión de VIH a los lactantes de madres infectadas. Debe realizarse un estudio del riesgo de la administración de nevirapina a madres normales y sus hijos, y su administración universal sólo puede recomendarse si los efectos colaterales observados son mínimos o nulos.

1. (a) Verdadero. (b) Falso: la agammaglobulinemia ligada al sexo se caracteriza por disminución de células B y ausencia de inmunoglobulinas. (c) Falso: los defectos fagocíticos causan infecciones bacterianas y micóticas recurrentes. (d) Verdadero. (e) Verdadero. (f) Verdadero. (g) Verdadero. (h) Verdadero. (i) Falso: por lo general estos niños son capaces de eliminar las bacterias encapsuladas frecuentes con anticuerpo más complemento, pero son susceptibles a patógenos víricos, protozoarios, micóticos y bacterianos intracelulares que se eliminan por la rama del sistema inmunitario mediada por células. (j) Falso: la inmunidad humoral también es afectada porque deben activarse las células T_H con restricción de clase II para obtener una respuesta de anticuerpos.

2. (a) 3. (b) 4. (c) 2. (d) 5. (e) 1. (f) 2.

3. En el síndrome de hiper-IgM ligado al sexo, el defecto se encuentra en el CD40L que se expresa en las células B. CD40L media la unión de las células B a las células T, y envía señales coestimulatorias a las células B para cambio de clase. Sin CD40L, el cambio de clase no ocurre y las células B no expresan otros isotipos de anticuerpo.

4. Como se expone en el capítulo 10, el timo es el sitio de diferenciación y maduración de las células T colaboradoras y citotóxicas. También en este órgano ocurre la selección positiva y negativa. Así, los timocitos producidos en la médula ósea de los pacientes con síndrome de DiGeorge carecen de la capacidad de madurar en tipos de células efectoras. En el capítulo 2 se mencionó que el timo disminuye de tamaño y actividad con la edad. En el adulto ya se han producido las poblaciones de células efectoras (el timo alcanza su tamaño máximo en la pubertad); por tanto, un defecto después de esta fase causaría una deficiencia de células T menos grave.

5. (a) La deficiencia de adhesión leucocítica se debe a la biosíntesis de una cadena β defectuosa en LFA-1, CR3 y CR4, que contienen la misma cadena β. (b) LFA-1 participa en la adhesión celular al unirse a ICAM-1 expresado en varios tipos de células. La unión de LFA-1 con ICAM participa en las interacciones entre las células T_H y las células B, entre los linfocitos T citotóxicos y las células blanco, y entre los leucocitos circulantes y las células endoteliales vasculares.

6. (a) Los genes de cadena pesada reordenados en los ratones con SCID carecen de los segmentos génicos D, J o ambos. (b) Según el modelo de exclusión alélica descrito en el capítulo 5, debe ocurrir un reordenamiento productivo del gen de cadena pesada para que los genes de la cadena κ se reordenen. Ya que los ratones con SCID carecen de un reordenamiento productivo de la cadena pesada, no realizan el reordenamiento de la cadena ligera κ. (c) Sí: el gen reordenado de la cadena pesada se transcribiría para producir una cadena pesada μ funcional. La presencia de la cadena pesada induciría después el reordenamiento del gen de la cadena μ (fig. 5-11).

7. (a) 4. (b) 3. (c) 2. (d) 1. (e) 8. (f) 6. (g) 5. (h) 7.

8. (a) Falso: VIH-2 y VIS están relacionados de manera más estrecha. (b) Falso: VIH-1 infecta chimpancés pero no causa inmunosupresión. (c) Verdadero. (d) Falso: la zidovudina actúa al nivel de la transcripción inversa del genoma vírico, mientras que el indinavir es un inhibidor de la proteasa vírica. (e) Verdadero. (f) Falso: los pacientes con SIDA avanzado a veces no tienen anticuerpo sérico detectable contra VIH. (g) Falso: la reacción en cadena de la polimerasa detecta el DNA provírico del VIH en células con infección latente. (h) Verdadero.

9. La razón más probable de la deficiencia de células T en el SIDA es el efecto citopático de la infección por VIH. Si la cantidad de virus en la circulación disminuye con el uso de antivíricos, el número de células T aumenta.

10. No. La multiplicación vírica y la cantidad de células T $CD4^+$ están en equilibrio dinámico y la concentración del virus permanece relativamente constante en la fase crónica de la infección por VIH.

11. Un incremento en la carga vírica y un descenso en las cifras de células T $CD4^+$ indica que la infección por VIH avanza de la fase crónica al SIDA. A menudo la infección por un agente oportunista ocurre cuando la carga vírica aumenta y la cifra de células $CD4^+$ cae. El SIDA en un individuo infectado por VIH-1 se define como la presencia de ciertas infecciones oportunistas o por un recuento de células T $CD4^+$ inferior a 200 células/mm^3 (cuadro 20-3).

12. La reactividad de la prueba cutánea se vigila para indicar la actividad funcional de las células T_H. Conforme el SIDA avanza y el recuento de células T $CD4^+$ disminuye, hay un declive en la reactividad de la prueba cutánea a los antígenos frecuentes.

13. Los receptores para ciertas citocinas, como CXCR4 y CCR5, también funcionan como correceptores para VIH-1. La quimiocina que es el ligando normal para el receptor compite con el virus por la unión al receptor y de esta manera puede inhibir la infección celular mediante el bloqueo de la unión del virus. Las citocinas que activan células T estimulan la infección porque aumentan la expresión de los receptores empleados por el virus (fig. 20-12c).

14. No. Hay células con infección latente que residen en los ganglios linfáticos o en otros sitios. Estas células pueden activarse y comenzar la producción de virus, lo que causa una recaída de la enfermedad. En una curación real del SIDA, el paciente debe estar libre de células que contengan DNA del virus de inmunodeficiencia humana.

15. El paciente L. S. se ajusta a la definición de SIDA, pero no el paciente B. R. El diagnóstico clínico de SIDA entre las personas infectadas con VIH depende del recuento de células T y de la presencia de varias enfermedades indicadoras. Véase el cuadro 20-3.

Analice los datos: (a) La CVID reduce la cantidad y el porcentaje de linfocitos T colaboradores. (b) El cuadro indica que existen menos células T $CD8^+$ vírgenes en los pacientes con CVID. Esto podría significar que la activación crónica en la CVID ha hecho a estas células T menos dependientes de la IL-2. De manera alternativa, la figura b ilustra que las células de la médula ósea de los pacientes con CVID produce menos IL-2. Si esto también se cumple para las células T_H o hay menos de éstas (como se observa en el cuadro), entonces la generación de CTL puede alterarse. Este ejemplo de la complejidad del sistema inmunitario demuestra que no siempre es posible predecir respuestas específicas. (c) Falso. Los datos de la figura b muestran que la cinética y la producción global de TNF-α son más altas en los pacientes con CVID que en los sujetos normales, pero la IL-2 es más baja. Así, no existe un impacto consistente. Con base en lo que sabemos acerca de la actividad de TNF-α, éste podría ser la causa de la mayor patología o muerte celular, lo que quizá explica la pérdida tanto de células $CD4^+$ como de $CD8^+$ en los pacientes con CVID. (d) Según el capítulo 20, la CVID reduce IgG, IgA e IgM. Sin embargo, con base en los datos presentados en el cuadro, podría predecirse que en ausencia de ayuda de células T, habrá un impacto significativo en el cambio de clase.

Capítulo 21

Pregunta de enfoque clínico: Dado que el cáncer cervicouterino se vincula con la infección por el virus del papiloma humano, es factible una vacuna para prevenir esa forma de cáncer; si se previene la infección por HPV, se previene el cáncer cervicouterino. Otros cánceres que podrían ser blancos de tal prevención son leucemia/

linfoma de células T del adulto y el cáncer hepático relacionado con infección por el virus de la hepatitis B. La mayoría de los cánceres no se ha vinculado con un agente infeccioso, y por tanto en esos casos una vacuna preventiva no es una opción.

1. (a) Falso: el retinoblastoma hereditario se debe a la desactivación de ambos alelos de *Rb*, un gen supresor tumoral. (b) Verdadero. (c) Verdadero. (d) Verdadero. (e) Falso: algunos retrovirus oncógenos no tienen oncogenes víricos. (f) Verdadero.

2. Las células del linaje pre-B han reordenado los genes de las cadenas pesadas y expresan la cadena pesada μ en su citoplasma (fig. 11-3). Podría efectuar el análisis de Southern-blot con una sonda C_μ para ver si los genes de la cadena pesada se han reordenado. También podría realizar una tinción fluorescente con anticuerpo específico para la cadena pesada citoplásmica μ.

3. (a) Parece que las células de melanoma en etapa temprana funcionan como células presentadoras de antígeno, procesan éste por la vía exógena y presentan el antígeno del toxoide tetánico con la molécula de MHC DR clase II. (b) Las células de melanoma en etapa avanzada podrían tener disminuida la expresión de las moléculas MHC clase II o tal vez no serían capaces de internalizar y procesar el antígeno por la vía exógena. (c) Como las células de melanoma temprano fijadas con paraformaldehído podrían presentar toxoide tetánico procesado, deben expresar moléculas MHC clase II en su superficie. (d) Se tiñen las células de melanoma temprano y avanzado con anticuerpo monoclonal fluorescente específico para las moléculas MHC clase II.

4. Los antígenos tumorales pueden ser codificados por genes expresados sólo por tumores, productos de genes sobreexpresados por el tumor o genes normalmente expresados sólo en determinadas etapas de diferenciación, o productos de genes normales que resultan alterados por mutación. En algunos casos los productos víricos son antígenos tumorales.

5. IFN-α, IFN-β e IFN-γ intensifican la expresión de las moléculas MHC clase II en las células tumorales, lo que intensifica la respuesta de linfocitos T citotóxicos contra los tumores. IFN-γ también aumenta la actividad de los linfocitos T citotóxicos, los macrófagos y las células NK, cada una de las cuales desempeña un papel en la inmunorreacción a los tumores. TNF-α y TNF-β tienen actividad antitumoral directa e inducen necrosis hemorrágica y regresión del tumor. IL-2 activa LAK y células TIL, ambas con actividad antitumoral.

6. (a) Las células de melanoma transfectadas con el gen B7 son capaces de emitir la señal coestimulante necesaria para la activación de los precursores de linfocitos T citotóxicos (CTL) en CTL efectores, que pueden destruir células tumorales. Las células de melanoma transfectadas con el gen GM-CSF secretan esta citocina, que estimula la activación y la diferenciación de células presentadoras de antígeno, sobre todo de células dendríticas, en la cercanía. Luego las células dendríticas pueden presentar antígenos tumorales a células T_H y precursores de CTL, lo que intensifica la generación de CTL efectores (fig. 22-11). (b) Como algunos de los antígenos tumorales en los melanomas humanos se expresan en otros tipos de cáncer, las células de melanoma transfectadas podrían ser eficaces contra otros tumores que tienen antígenos idénticos.

7. (a) 4. (b) 2. (c) 1. (d) 5. (e) 3. (f) 9. (g) 8. (h) 7. (i) 6.

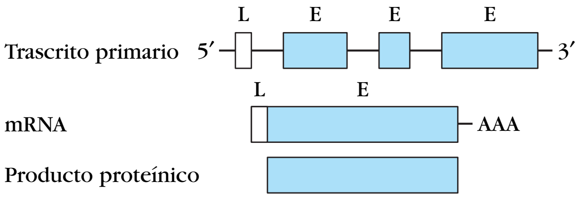
Capítulo 22

Pregunta de enfoque clínico. Los microarreglos proporcionan al médico la capacidad de diagnosticar una enfermedad con más exactitud. Por ejemplo, si los patrones de expresión génica varían en dos tumores con fenotipo similar, tal vez sea posible redefinir la enfermedad como dos trastornos distintos con tratamientos diferentes.

1. (a) La clona genómica contiene secuencias intermedias (intrones) que se eliminan durante el procesamiento del trascrito primario y por tanto no especifican ningún aminoácido en el producto proteínico. (b) El DNA debe microinyectarse en el óvulo fecundado para que el DNA (transgén) se transmita a las células hijas. (c) Los cultivos linfoides primarios poseen una vida finita y contienen una población heterogénea de células.

2. (a) Homocigoto; singénico. (b) Células B normales cebadas con antígeno; células plasmáticas cancerosas (células de mieloma); ilimitado; anticuerpos monoclonales. (c) Transformación; indefinido.

3.



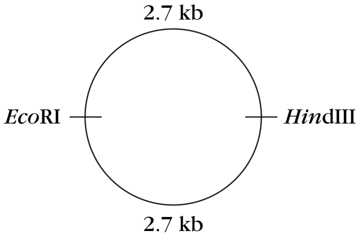
4. c.

5. a, b, d.

6. El DNA transfectado integra sólo un pequeño porcentaje de células. Si también está presente un gen marcador elegible, la pequeña cantidad de células transfectadas se reproducen en el medio apropiado, mientras que una cantidad mucho mayor de células no transfectadas mueren.

7. El ratón se volvería un mosaico en el que el transgén se habría incorporado en algunas de las células somáticas, pero no en todas.

8. Ya que la división con cada enzima de restricción sola produce una sola banda, el plásmido, que es circular, debe contener un sitio de restricción para cada enzima. Como la división simultánea del plásmido de 5.4 kb con ambas enzimas produjo una sola banda, los fragmentos de cada división deben tener la misma longitud. Por tanto, los sitios de restricción deben ser equidistantes entre sí en ambas direcciones del plásmido, como se muestra en el diagrama.



9. d.

10. Aísle el mRNA de las células T activadas y transcríbalo al cDNA con transcriptasa inversa. Inserte el cDNA en un vector de expresión adecuado, como el DNA plásmido que transporta un gen de selección de ampicilina. Transfiera el DNA plásmido recombinante a *E. coli* y cultive en presencia de ampicilina para seleccionar las bacterias que contienen el DNA plásmido. Realice una prueba en el sobrenadante del cultivo bacteriano para detectar la presencia de IL-2; con este fin vea si el anticuerpo monoclonal para IL-2 reacciona con el sobrenadante del cultivo. Una vez que se identifique que el cultivo bacteriano produce IL-2, puede clonarse el cDNA.

11. Aplique una marca radiactiva al mRNA y utilice el mRNA marcado como sonda para detectar el genoma mediante hibridación in situ. Cubra de nuevo y cultive la clona seleccionada; aísle el DNA clonado del DNA del hospedador.

12. En la producción de ratones transgénicos se agrega un gen ajeno al genoma; el proceso implica la introducción de un gen natural clonado o cDNA en un óvulo fecundado, que después se implanta en una hembra seudográvida. Para obtener ratones con desactivación génica, una forma no funcional de un gen de ratón sustituye al gen funcional para que el animal no exprese el producto codificado; el proceso incluye la selección de las células madre embrionarias transfectadas que portan el gen mutado y su inyección en un blastocisto, que luego se implanta en una hembra seudográvida.

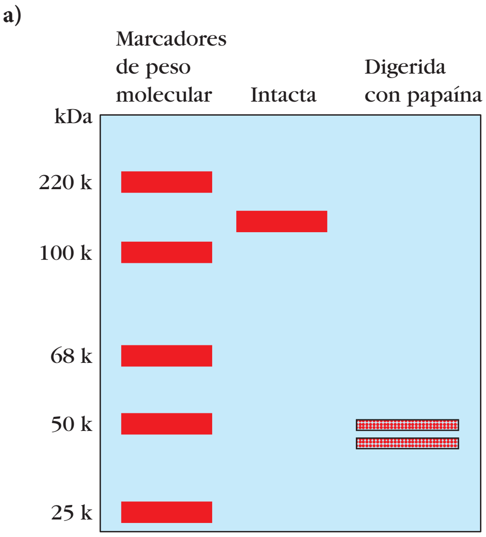
13. Los ratones *knockout* son animales en los que se elimina un gen o secuencia de DNA particular, mientras que los ratones con inclusión de genes (*knock-in*) son animales en los que un fragmento de DNA se intercambió por la secuencia de DNA endógena.

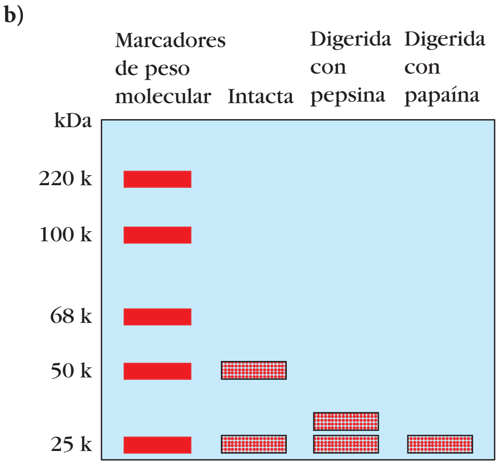
14. El sistema Cre/*lox* hace posible borrar o insertar en forma específica una secuencia elegida de DNA en el tejido de elección en un momento particular durante el desarrollo mediante el uso de promotores tisulares específicos para impulsar el cambio en la secuencia de DNA. Por tanto, esta tecnología refuerza las estrategias de eliminación e inserción de genes al hacerlas más selectivas. Además, a veces la restricción del cambio de secuencia a un tejido particular permite estudiar las consecuencias de una deleción o inserción particulares en ese tejido, aunque fueran letales para el organismo si se encontrara en todos los tejidos.

15. (a) 8. (b) 2. (c) 5. (d) 9. (e) 4. (f) 3. (g) 6. (h) 7. (i) 10.

16. Las células tomadas directamente de pacientes o donantes sanos representan más de cerca la actividad in vivo de estos tipos celulares, lo cual constituye una ventaja sobre el uso de PBMC. Sin embargo, constituyen una población de células mixtas, y no siempre es claro cómo es que las interacciones célula-célula pueden afectar los resultados experimentales. El uso de líneas celulares elimina los efectos de tales interacciones y define con claridad cuál tipo celular específico es responsable de un efecto. Asimismo, los experimentos realizados con PBMC exhiben variación de un donante a otro, mientras que las líneas celulares producirán resultados más uniformes debido a la homogeneidad genética de la población celular. Finalmente, a menudo las líneas celulares se transforman o se derivan de células cancerosas y se desvían de modo significativo de los tipos celulares in vivo a los que representan.

17.

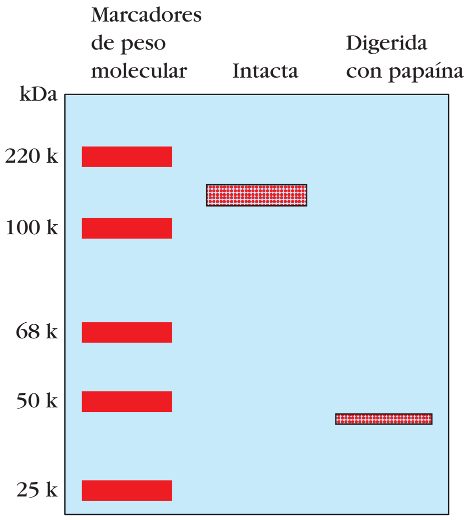




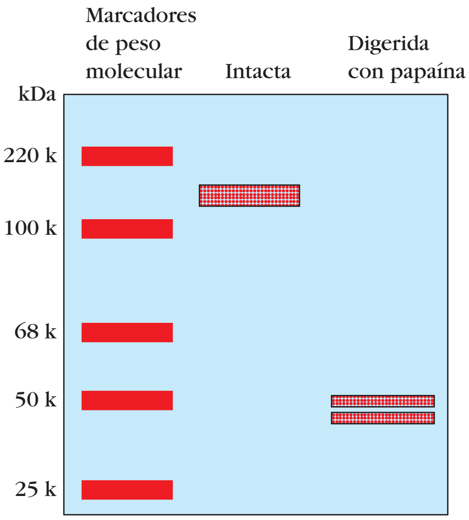
(*continúa*)

17. (*continuación*)

c)


Marcadores de peso molecular
Intacta
Digerida con papaína
kDa
220 k
100 k
68 k
50 k
25 k

1) mAb antiidiotipo


Marcadores de peso molecular
Intacta
Digerida con papaína
kDa
220 k
100 k
68 k
50 k
25 k

2) IgG policlonal antimurina de conejo

Índice alfabético

Una letra f después del número de página indica figura; una c indica cuadro.
Las páginas precedidas de la letra A se refieren a los Apéndices.

Abacavir, para infección por VIH, 517c, 518
Abciximab, 141c
abl, en cáncer, 528
Abzimas, 106
Ácido, araquidónico, 339, 339f
  desoxirribonucleico. *Véase* DNA
  ribonucleico. *Véase* RNA
Activador de plasminógeno tipo urocinasa, 338
Adenosindesaminasa, deficiencia, 503
Adhesión celular, homotípica, 329
  moléculas. *Véase* Moléculas de adhesión celular (CAM)
Adición de nucleótidos de región P, diversidad de anticuerpos y, 125, 125f, 234f
  diversidad de receptores de célula T y, 234, 234f
Adrenalina, 388, 388c
Afinidad de anticuerpo, 145-150
  con sitios de unión múltiples, 148-149
  definición, 145-146
  determinación, por diálisis de equilibrio, 147-148, 148f
    por resonancia de plasmones superficiales, 149-150, 150f, 151f
Afroestadounidenses, asma en, 20, 384-385
Agammaglobulinemia, 284, 494f, 495c, 496f, 498
  ligada al sexo, 284, 494f, 495c, 496f, 498
Aglutinación, 97
  bacteriana, 154
  definición, 153
  inhibición, 154
    ensayos, efecto prozona en, 153
  pasiva, 153f, 154
  reacciones, 153-154
Aglutininas, 153
Agranulocitosis congénita, 494f
AIRE, 407
Alelos, 191. *Véase también* Gen(es)
  HLA, susceptibilidad a enfermedades y, 205-206
  MHC, 205-206
Alemtuzumab, 141c
  para cáncer, 542c
Alergenos, 372, 373-374, 374c, 381-383. *Véase también* Reacciones de hipersensibilidad
  ensayos para, 384, 386f
Alergias, a ambrosía, 374, 374c, 381
  a cucarachas, asma y, 385
  a nueces, 20
  a polen, 20, 374, 374c, 381. *Véase también* Reacciones de hipersensibilidad
  alimentarias, 20, 383
Aloinjertos, 33, 426-440. *Véase también* Trasplante
  aceptación, 427f, 428
  células T y, 241-242
  histocompatibilidad, 428
  rechazo, 426-434. *Véase también* Rechazo de injerto
  tolerancia a, 439-440
Alorreactividad, 241-242, 242c, 431
Alt, F.W., 122
Alteridad, inmunogenicidad y, 78-79
Allison, J.P., 235
Ambrosía, alergias a, 374, 374c, 381
Amherst, Jeffrey, 468
Amígdalas, 47
AMP (monofosfato de adenosina), en hipersensibilidad, 379
Anafilaxis, 18, 20, 371, 381. *Véase también* Reacciones de hipersensibilidad
Anafilotoxinas, 182-184, 338-339
Análisis, de microarreglos, 567-570, 570f
  de retardo en gel, 561-562
Anemia, autoinmunitaria, 408
  hemolítica, autoinmunitaria, 403c, 408
    inducida por fármacos, 391, 408
  perniciosa, 403c, 408
Anergia, 404
  clonal, 259-260, 260f, 404, 406
    inducción, en inmunosupresión para trasplantes, 438
Angioedema hereditario, 186
Antibióticos, alergia a, 391, 391c, 393
  resistencia de *Mycobacterium tuberculosis* a, 469-470
Anticancerosos, inmunodeficiencia por, 504-505. *Véase también* Cáncer
Anticuerpo(s), 76. *Véase también* Inmunoglobulina(s)
  actividades biológicas, 95-100
  afinidad. *Véase* Afinidad de anticuerpo
  anti-CD4, en inmunosupresión para trasplantes, 437
    monoclonales, para enfermedad autoinmunitaria, 420
  anti-CD20, para linfoma, 140-141, 141c
  anti-CD25, 312, 321c
    en inmunosupresión para trasplantes, 437
    para enfermedad autoinmunitaria, 421
  anti-CD40L, en inmunosupresión para trasplantes, 438
  anticitocina, 319, 320-321
    en inmunosupresión para trasplantes, 437
  anti-ICAM-1, en inmunosupresión para trasplantes, 437
  anti-IFN-γ, en inmunosupresión para trasplantes, 437
  anti-IgE, para hipersensibilidad, 387
  antiinflamatorios, 347
  antiisotipo, 101
  anti-LFA-1, en inmunosupresión para trasplantes, 437
  antilípido, 79-80
  anti-Rh, para eritroblastosis fetal, 390
  anti-TAC, 312
  anti-TNF-α, 319, 320
    para choque séptico, 319
    para enfermedad autoinmunitaria, 420-421
  antitumorales, 538
  avidez, 148-149
  biespecíficos, 136-137, 137f
  bloqueadores, 386
  bloqueo, 386
  cadenas ligeras. *Véase* Cadenas ligeras (L)
  cadenas pesadas. *Véase* Cadenas pesadas (H)
  catalíticos, 106
  clases, 87, 87c, 95-100
  clonotípicos, en el aislamiento de receptores de célula T, 224
  como heterodímeros, 85, 85f
  concentración, determinación, 150
  definición, 4, 76
  descubrimiento, 4-5
  diversidad, 12, 123-127, 233-234, 234f
    adición N en, 125, 125f
    adición P en, 125, 125f
    asociación combinatoria de cadenas ligeras y pesadas en, 127
    diferencias entre especies en, 127
    flexibilidad de unión y, 14f, 121, 121f, 123
    hipermutación somática y, 125, 125f
    mecanismos, 233-234, 234f
    segmentos génicos de línea germinal múltiples y, 123, 124f
    unión combinatoria V(D)J y, 123, 124c
  e inmunoglobulinas, 4
  en cáncer, 538
  en el suero, 84-85
  en infecciones bacterianas, 455-457, 456f, 457c
  en la activación del complemento, 95
  en la neutralización vírica, 449-450, 451
  en la opsonización, 37, 94-95
  especificidad, 6, 10-12
  específicos de hapteno, 78
  estructura, 84-89
  funciones efectoras, 76, 95-96
  heterogeneidad, 86
  humanizados, 136, 137f
  humano antimurino (HAMA), reacción, 393
  incompletos, 153
  marcado de, 164, 164f, 551
  monoclonales. *Véase* Anticuerpos monoclonales
  policlonales, 105, 105f
  quiméricos, 136, 137f
  regiones constantes. *Véase* Región constante (C)

- Anticuerpo(s) (*cont.*)
  - regiones determinantes de complementariedad de, 85, 90, 91f, 92f
  - regiones variables, 87-89, 88f
  - retroinhibición por, 297-298
  - secuencias de aminoácidos en, 85, 86
    - variabilidad, 123-125, 124c
  - sitios de unión, 89-94
    - múltiples, 148-149
  - teoría de la cadena lateral de, 6, 7f
  - terapia con, para inflamación, 346-347. *Véase también* Anticuerpos monoclonales
  - tinción fluorescente, 160-161, 161f
  - transporte, 133
- Anticuerpo(s) monoclonales, 105-107, 136
  - abzimas como, 106
  - anticitocina, 319, 320-321
  - anti-IgE, para hipersensibilidad, 387
  - enfermedad del suero por, 393
  - modificados por ingeniería genética, 106
  - obtención, 105-106
  - producción, en ratones con desactivación génica, 137, 138f
    - tecnología de exhibición de fago en, 137-138, 139f
  - usos clínicos, 106, 140-141, 141c
    - en artritis reumatoide, 139
    - en cáncer, 140-141, 141c, 542-543, 542c
    - en enfermedad autoinmunitaria, 420-421, 421f
    - en hemoglobinuria paroxística nocturna, 183
    - en inmunosupresión para trasplantes, 437
- Antigenicidad, definición, 77
  - e inmunogenicidad, 77-81
- Antígeno(s), carcinoembrionario, 536-537, 537c
  - CD, A-1-A26. *Véase también en* CD
  - circunesporozoíto (CS), en paludismo, 460
  - coadyuvantes para, 81
  - de diferenciación, 28
  - de grupo sanguíneo ABO, anticuerpos contra, 389
    - en eritroblastosis fetal, 391
    - en reacciones transfusionales, 388-389
    - hemaglutinación en la tipificación de, 153-154, 153f
    - propiedades, 389f
    - reactividad cruzada en, 149, 149c
    - *Véase también* Antígenos de grupo sanguíneo ABO
  - de grupo sanguíneo Rh, en eritroblastosis fetal, 389-391, 390f
  - de histocompatibilidad, 241
  - de trasplante específicos de tumor (TSTA), 531-535, 532f. *Véase también* Antígenos tumorales
  - de trasplante relacionados con tumor (TATA), 531-532, 532f, 536-537. *Véase también* Antígenos tumorales
  - definición, 77
  - dependientes del timo, 278, 279, 279c
    - en la activación de células B, 278, 279c, 285-287
  - endógenos, presentación, 209-212, 210f-212f, 214-217, 214f-216f
    - presentación cruzada, 217, 217f
  - enlaces cruzados entre, 99, 100f
  - epítopos en. *Véase* Epítopo(s)
  - estudios pioneros, 6
  - glucolípidos, presentación, 217-218, 218f
  - H-Y, expresión por timocitos, 251
  - independientes del timo en la activación de células B, 278-279, 279c
  - inmunógenos y tolerógenos, 403, 404c
  - leucocíticos humanos. *Véase en* HLA
  - lípidos, presentación, 217-218, 218f
  - M, 149
  - no peptídicos, presentación, 217-218, 218f, 226
    - reconocimiento por células T, 217-218, 218f, 226
  - propios, tolerancia a. *Véase* Tolerancia
  - radiomarcados, 155
  - reconocimiento, asociativo (ligado), 291, 292f
    - por células B, 81-84, 82c
    - por células T, 81, 82c
  - Rh, en eritroblastosis fetal, 389-391
  - secuestro, en autoinmunidad, 415
    - en la tolerancia, 407
  - TAC. *Véase* CD25
  - termoestable (HSA), 275
  - tumorales, 531-538. *Véase también* Antígenos tumorales
  - unión, 89-94
    - cambios conformacionales en, 92-93, 92f
    - en regiones determinantes de complementariedad, 90-93, 91f, 92f
  - *Véanse también* Células presentadoras de antígeno; Interacciones antígeno-anticuerpo; Presentación de antígeno; Procesamiento de antígeno
- Antígenos tumorales, 531-538
  - antígeno carcinoembrionario, 536-537, 537c
  - compartidos, 537
  - específicos de tumor, 531-535, 532f
    - identificación, 533-535, 534f
    - inducidos por factores químicos/físicos, 532-535
    - inducidos por virus, 533-536, 536f
  - fetoproteína alfa, 536-537, 537c
  - oncogenes como, 537
  - relacionados con tumor, 531-532, 532f, 536-537
- Antihistamínicos, para hipersensibilidad, 388, 388c
- Antiinflamatorios, 346-348, 347f, 348f
  - no esteroides, 347-348, 348f
  - para enfermedad autoinmunitaria, 420-421
- Antioncogenes, 528, 528c
- Antituberculosos, 459
- Antivíricos, para infección por VIH, 515-518, 517c
- *APC*, gen supresor tumoral, 528c, 530
- Apéndice, 47
- Aplasia tímica, en el síndrome de DiGeorge, 500
- Apoptosis, 26, 27f, 28f
  - Bcl-2 en, 265
  - caspasas en, 264, 265f, 359, 360f
  - de células B, 276-278, 296
  - de células T, 264-267
  - de timocitos, 41, 249-251, 249f
  - en la hematopoyesis, 26-28, 27f, 28f
  - en la inducción de cáncer, 528-529
  - en la tolerancia, 406
  - expresión génica en, 26-27, 27c
  - fallo, en el síndrome de Canale-Smith, 266-267
  - Fas/FasL en, 36, 264-267, 358-359, 359f, 406
  - funciones, 264
  - regulación, 26-27, 27c
  - señalización en, 264
  - y necrosis, 26, 276f
- Apoptosomas, 265
- Arañas, mordeduras, inmunización pasiva contra, 477, 478c
  - viuda negra, inmunización pasiva contra la mordedura, 477, 478c
- Armazón, regiones, 90
- Artritis, autoinmunitaria, modelo animal, 412c, 413
  - psoriásica, genes KIR-MHC en, 364-365
  - reumatoide, 346c, 347, 403c, 411
    - anticuerpos monoclonales para, 139
    - células T en, 401-402
    - complejo mayor de histocompatibilidad en, 205
    - en mujeres, 416-417
    - factores genéticos en, 205
    - modelo animal, 412c
    - tratamiento, 419-422
- Ascidias, inmunidad innata en, 71, 71f
- Asma, 18-19, 381-383, 382f
  - en afroestadounidenses, 20, 384-385
  - factores genéticos en, 383-385
  - tratamiento, 386-388
- Ataques cardíacos, 403c
- Ataxia-telangiectasia, 495c, 500
- Atazanavir, para infección por VIH, 517c, 518
- Atopia, 373-374, 381-383
  - factores genéticos en, 385
- Autismo, vacunas y, 4
- Autoantígenos, tolerancia a. *Véase* Tolerancia
- Autoinjertos, 426. *Véase también* Trasplante
- Autoinmunidad, 19, 401-422
  - activación de células B policlonales en, 419
  - antígenos secuestrados en, 415
  - citocinas en, 418-419, 419f
  - complejo mayor de histocompatibilidad en, 205, 414, 418-419, 419f
  - definición, 401
  - diferencias de género en, 415, 416-417
  - en animales, 411-413
  - en hipersensibilidad mediada por inmunocomplejos, 372, 393
  - inducción, 414-419
  - mimetismo molecular en, 417-418, 418c
  - modelos animales, 411-413, 412c, 418-419, 419f
  - modelos experimentales, 412c, 413
  - reactividad cruzada en, 417
  - receptor de célula T en, 414

  - trastorno de la tolerancia e, 407. *Véase también* Tolerancia
- Autorización, 353, 354f
- Autotolerancia. *Véase* Tolerancia
- Avidez, de anticuerpos, 148-149
  - modelo, para selección tímica, 251-252
- Avidina, 164
  - radiomarcado con, 551
- Azatioprina, en trasplante, 434, 436f

- Babuinos, xenoinjertos de, 435, 444
- *Bacillus anthracis*, en bioterrorismo, 468-469
- Bacteria(s). *Véase también* Infecciones bacterianas
  - aglutinación, 154
  - estructura, 8f
  - evasión de las defensas del hospedador por, 455-457, 456f, 457c
  - gramnegativas, fimbrias/pelos, 455
    - resistencia al complemento en, 181-182, 181f, 182c
  - invasión tisular por, 455, 457, 457c
  - lesión tisular por, 455, 457, 457c
  - mecanismos de fijación celular, 455
  - proliferación, 455-457, 457c
  - resistencia al complemento en, 181-182, 181f, 182c
  - variación antigénica en, 455
- BAFF (factor activador de células B humanas), A-29
- Balsas lipídicas, 255
- BALT (tejido linfoide bronquial), 46
- Baltimore, David, 119
- Barnard, Christian, 442
- Barreras físicas, superación por patógenos, 9
- Basófilos, 37, 38, 38f
  - en hipersensibilidad, 375, 377-379
  - formación, 25f
- *bax*, en apoptosis, 27c
- Bazo, 44-46, 46f
  - extirpación, efectos adversos, 46
  - índice esplénico, 368
  - zona marginal, 45, 46f
- BCG (bacilo de Calmette-Guérin), 459-460, 481-482
  - para cáncer, 540
  - para tuberculosis, 459-460
  - vacuna, 459-460, 481-482
- *bcl-2*, en apoptosis, 26-27, 27c, 265
  - en cáncer, 27, 528-529, 528c
- Behring, Emil von, 4, 98
- Benacerraf, B., 19, 189, 206, 207
- Bence-Jones, proteína, 86
- Bennett, J., 113
- Bennich, H., 374
- Berek, Claudia, 126-127
- Berson, S.A., 154-155
- Beutler, Bruce, 63
- Bevacizumab, para cáncer, 542c
- Bevan, Michael, 217
- Bibliotecas, de cDNA, 556
  - de DNA genómico, detección, 558-559, 558f
  - de fagos, 137-139
  - detección, 558-449, 558f
  - genómicas, 558
- Bioquímica de proteínas, 551-555
- Bioterrorismo, agentes infecciosos en, 468-469
- Biotina, marcadores, 551
- Bishop, J.M., 527
- Blastocitos, 31f
- Blk, en la activación de células B, 280f, 281, 282f
- BLNK, en la activación de células B, 280f, 281, 282f
- Bluestone, J.A., 438
- Bmi-1, 26, 26c
- Bolsa de Fabricio, 34, 42
- Bordet, Jules, 6, 168
- Botulismo, inmunización pasiva contra, 477-478, 478c
- Braciale, T.J., 209
- Bradicinina, 338, 338f
  - en hipersensibilidad, 380c
- Breinl, Friedrich, 6
- Broncoconstricción, en asma, 381-383
  - en hipersensibilidad, 380
- Bronquiectasis, 213
- Bruton, O.C., 284
- Burki, K., 277, 278, 288-289
- Búsqueda genómica al azar, 385

- C, segmentos génicos. *Véase* Segmentos génicos C
- C/EBP, 344, 344f
- C1, deficiencia, 186
  - en la activación del complemento, en la vía clásica, 170, 170f, 172f
    - en la vía de lectina, 175
  - estructura, 170, 171f
  - inhibidor de, 177, 177c, 178f
    - deficiencia, 186
- C2, en la activación del complemento, 170, 170f, 172f
  - en la vía de lectina, 175
- C3, deficiencia, 186
  - en la activación del complemento, en la vía alterna, 173-175, 174f, 177
    - en la vía clásica, 170, 170f, 172f, 177
    - en la vía de lectina, 175, 177
  - en la inflamación, 182-184, 338-339
  - en la regulación del complemento, 177-179, 177c, 178f, 179f
- C3a/C4a, 181c
- C3b, 95, 177, 177c, 178f
  - en el lupus eritematoso sistémico, 185
  - en la neutralización vírica, 184-185, 185f
  - en la opsonización, 184, 184f
- C4, deficiencia, 186
  - en la activación del complemento, en la vía clásica, 170, 170f, 172f, 177, 177c
    - en la vía de lectina, 175, 177, 177c
  - en la regulación del complemento, 177-179, 177c, 178f, 179f
- C4b, en la neutralización vírica, 184-185, 185f
  - en la opsonización, 184, 184f
  - proteína de unión a, 177c, 179
- C5, en la activación del complemento, 170f, 172f, 173, 175-176, 176f
  - en la inflamación, 184, 338-339
  - formación, 174f
- C6, en la activación del complemento, 170f, 172f, 173
- C7, en la activación del complemento, 175-176, 176f
- C8, en la activación del complemento, 175-176, 176f
- C9, deficiencia, 186
  - en el complejo poli-C9, 175f, 176
  - en la activación del complemento, 176, 176f
- Cadena de unión (J), en IgA, 99, 99f
  - en IgM, 96, 97, 97f
- Cadena invariante (Ii), 214-215, 215f
- Cadenas γ, 87, 87c
- Cadenas κ. *Véase en* Cadenas ligeras (L)
- Cadenas λ, 87, 87c. *Véase en* Cadenas ligeras (L)
- Cadenas ligeras (L), 85, 85f
  - asociación combinatoria con cadenas pesadas, 127
  - en la unión a antígeno, 91
  - ensamblaje, 133, 134f
  - κ, 87, 87c
    - localización cromosómica, 115c
    - segmentos génicos que codifican, 115, 116f
  - λ, 87, 87c
    - localización cromosómica, 115c
    - segmentos ogénicos que codifican, 115, 116f
  - plegamiento, 87-89, 89f
  - regiones constantes, 85, 85f, 87-89, 88f, 93, 115, 116f. *Véase también* Regiones constantes (C)
  - regiones variables, 87-90, 88f-91f, 117-122. *Véase también* Regiones variables (V)
  - secuencias de aminoácidos, 87-89, 89f
    - variabilidad, 89-90, 91f
  - segmentos génicos C en, 115
  - segmentos génicos que codifican, 115-116, 116f
    - reordenamiento, 117-118, 117f, 119-122. *Véase también* Genes de inmunoglobulina, reordenamiento
  - sustitutas, 273c, 274, 275f
  - tipos, 87, 87c
- Cadenas pesadas (H), 85, 85f
  - asociación combinatoria con cadenas ligeras, 127
  - clases, 87, 87c
  - en la unión a antígeno, 91
  - ensamblaje, 133, 134f
  - isotipos/subisotipos, 87, 87c
  - plegamiento, 87-89, 89f
  - procesamiento diferencial del RNA en, 130-133, 131f, 132f
  - regiones constantes, 85, 85f, 87-89, 88f, 93, 115, 116, 116f. *Véase también* Regiones constantes (C)
  - regiones variables, 85, 85f, 87-89, 88f, 115-116, 118-122. *Véase también* Regiones variables (V)
  - secuencias de aminoácidos en, 87-89, 89f
    - variabilidad, 89-90, 91f
  - segmentos génicos que codifican, 115-116, 116f

Cadenas pesadas (H) (*cont.*)
    reordenamiento, 118, 118f. *Véase también* Genes de inmunoglobulina, reordenamiento
    transcripción, 130-133, 131f, 132f
Calnexina, 212, 212f
Calreticulina, 212, 212f
Cambio antigénico, en el virus de la gripe, 452, 453, 453f
  en glucoproteína variable de superficie, 462, 463f
Cambio de clase, 128-129, 129f, 130f, 271
  CD40/CD40L en, 296
  desaminasa de citidina inducida por activación en, 128-129
  en la diferenciación de células B, 296, 296f
  en la inmunorreacción primaria, 289, 290c
  en la maduración de afinidad, 294f, 296
  interleucina 4 y, 315
cAMP, en hipersensibilidad, 379
Cáncer, 525-544. *Véase también en* Tumor(es)
  antígeno carcinoembrionario en, 536-537, 537c
  antígenos tumorales en, 531-538. *Véase también* Antígenos tumorales
  apoptosis en, 528-529
  avance, 530, 530f
  carcinógenos y, 526-527, 532-535
  causas, 526-527, 532-535
  células asesinas naturales en, 537-538
  cervicouterino, genes KIR-MHC en, 364-365
    vacuna contra, 534-535
    virus del papiloma humano y, 527, 534-535
  citocinas en, 319
  clasificación, 525
  colónico, anticuerpos monoclonales para, 542-543, 542f
    avance, 530, 530f
  crecimiento tumoral en, 526, 526f
  del sistema inmunitario, 530-531
  diagnóstico, análisis de microarreglos en, 568-569
  factores genéticos en, 527-530
  fetoproteína alfa en, 536-537, 537c
  genes KIR-MHC en, 364-365
  genes supresores tumorales en, 528, 528c, 530
  inducción, 527-530
  inducido por metilcolantreno, 532-535
  inmunodeficiencia relacionada con el tratamiento, 504-505
  inmunorreacción en, 537-538
  inmunoterapia, anticuerpos monoclonales en, 140-141, 141c, 542-543, 542c
    células presentadoras de antígeno en, 540
    citocinas en, 540-541
    inmunotoxinas en, 542-543
    interferones en, 322-323
    señales coestimulatorias en, 539-540, 540f
  mamario, anticuerpos monoclonales contra, 141, 141c, 542-543, 542f
    c-neu en, 530
  metastásico, 525, 526f
  mutaciones en, 526-527
  mutagénesis en, 526
  perfil de expresión génica en, 568-569
  proliferación celular en, 527-528
    inhibición, 528
  reordenamientos de células T en, 232-233
  señalización en, 528c, 538, 539-540, 539f
  terminología, 525
  transformación maligna en, 526-527, 526f
  transposiciones cromosómicas en, 529-530, 529f, 531, 531f
  trasplante de médula ósea para, 441-442. *Véase también* Médula ósea, trasplante
  tumores en, 525
  virus en, 526-527
Candida albicans, estructura, 8f
Candidosis, 7, 466-467
  relacionada con VIH, 513
Carabinas moleculares, 212-213
  en el ensamblaje de MHC clase I, 212, 214, 212f
Carboxilo terminal, dominio, 94
Carbunco, en bioterrorismo, 468-469, 469f
Carcinógenos, 526-527
  químicos/físicos, 532-535
  víricos, 526-527
Carcinoma, 525. *Véase también* Cáncer
Cardiopatía, proteína C reactiva en, 66-67
Cardiotrofina 1, A-30
Carrell, Alexis, 425
Caspasas, efectoras, en apoptosis, 264, 265f
  en apoptosis, 27c, 264, 265f, 359, 360f
Catelicidinas, 61c
CCCC, motivo, en receptores de interleucina, 308, 309, 311
CCR. *Véase* Quimiocinas CCR
CCR5, 330c
  en la infección por VIH, 512
CD. *Véase* Antígenos CD
CD1, A-1
  estructura, 218, 218f
  expresión, 218
  presentación de antígeno por, 217-218, 218f
CD2, 34c, 237c, 238, A-1
  en la reacción efectora, 352
CD3, 34c, A-1
  anticuerpo contra, en inmunosupresión para trasplantes, 437
  en el complejo receptor de célula T, 235, 236f
  en la superfamilia de las inmunoglobulinas, 103, 104f
  en señalización, 235
  estructura, 235
CD4$^+$, 34c, 236-237, 237c, A-2. *Véanse también* Célula(s) T; Células T colaboradoras (T_H); Complejo mayor de histocompatibilidad (MHC), moléculas clase I/II
  anticuerpo contra, en inmunosupresión para trasplantes, 437
  células T anérgicas, 260
  células T colaboradoras y, 35
  células T reguladoras y, 35
  como correceptor, 237-238, 237f, 237c, 238f
  en el rechazo de injerto, 426-427
  en la activación de células T, 254, 256f, 259, 260
  en la infección por VIH, 512, 512f, 513c, 514-515, 515f
  en la maduración de células T, 246, 247f, 248
  en la presentación de antígeno, 209, 210f, 214-217, 214f-217f
  en la selección tímica, 250-251, 251f, 252f, 253, 254f
  en la superfamilia de las inmunoglobulinas, 103, 104c
  estructura, 237, 237f
  función, 237, 237c
  receptor de célula T y, 237-238, 237f, 237c, 238f
  restricción a MHC propio y, 207
CD4$^+$CD25$^+$, 263
CD5, 34c, 237c, A-2
CD8$^+$, 34c, 236-237, 237c, A-2. *Véanse también* Célula(s) T; Células T citotóxicas (T_C); Complejo mayor de histocompatibilidad (MHC), moléculas clase I/II
  células T anérgicas, 260
  células T citotóxicas y, 355, 356
    en la presentación de antígeno, 209-212, 210f-212f, 216f
  como correceptor, 237-238, 237f, 237c, 238f
  en el rechazo de injerto, 426-427
  en la activación de células T, 254, 256f, 259, 260
  en la maduración de células T, 246, 247f, 248
  en la selección tímica, 250-253, 250c, 251f-253f
  en la superfamilia de las inmunoglobulinas, 103, 104f
  estructura, 237, 237f
  función, 237, 237c
  linfocitos T citotóxicos, 35, 355, 356f
    en la presentación de antígeno, 209-212, 210f-212f, 216f
  receptor de célula T y, 237-238, 237f, 237c, 238f
  restricción a MHC propio y, 207
CD11/18, en la extravasación de leucocitos, 333, 333f, 334
  en la extravasación de linfocitos, 337
CD11a/CD18. *Véase* LFA-1
CD11b/Cd18, 329c
CD16, 34c, A-3
CD18, integrinas, 328
CD19, 274f, 275, A-3
  en el complejo correceptor de célula B, 281-284, 283f
CD20, A-3
  anticuerpo contra, para linfoma, 140-141, 141c
CD21, 34c, A-3
  en el complejo correceptor de célula B, 281-284, 283f
CD22, A-3
  en el complejo correceptor de célula B, 281-284, 283f

- CD25, 274f, 275, 312, A-3
  - anticuerpo contra, 312, 321c
    - en inmunosupresión para trasplantes, 437
    - para enfermedad autoinmunitaria, 312, 321c
  - células T reguladoras y, 35
  - en la maduración de células T, 246
- CD28, 34c, A-4
  - en la activación de células T, 237c, 238, 259, 259f, 406
  - en la superfamilia de las inmunoglobulinas, 103, 104f
- CD31. *Véase* PECAM-1
- CD32, 34c, A-4
- CD34$^+$, 29, A-4
- CD35, 34c, A-4
- CD40, 34c, A-5
  - en células dendríticas, 39
  - en el cambio de clase, 296
  - en el síndrome de hiper-IgM, 498-499
  - en la activación de células B, 286
- CD40L, anticuerpo contra, en inmunosupresión para trasplantes, 438
  - en el cambio de clase, 296
  - en el síndrome de hiper-IgM, 498-499
  - en la activación de células B, 286
- CD43, 274f, 275, A-5
- CD44, A-5
  - en la maduración de células T, 246
- CD45, 34c, A-6
  - en la activación de células T, 352
- CD45R, en la activación de células T, 237c, 238
  - en la maduración de células B, 272, 274f, 275
- CD49d/CD29, en la extravasación de leucocitos, 329c
- CD50, 329, 329c, A-7
- CD54. *Véase* ICAM-1
- CD55, A-8
  - en la hemoglobinuria paroxística nocturna, 183
- CD56, 34c, A-8
- CD59, 177c, 179-180, A-8
  - en la hemoglobinuria paroxística nocturna, 183
- CD62L. *Véase* Selectina L
- CD74, 214-215, 215f, A-10
- CD80, en células dendríticas, 39, A-11
  - en la activación de células T, 259, 259f, 263-264
- CD81, en el complejo correceptor de célula B, 281-284, 283f, A-11
- CD86, A-11
  - en células dendríticas, 39
  - en la activación de células T, 259, 259f, 263-264
- CD94:NKG2, receptores, 362
- CD102, 329, 329c, A-12
  - en la extravasación de leucocitos, 329c
- CD106. *Véase* VCAM-1
- CD152, A-16
  - en la activación de células T, 259, 259f
- CD154, A-16
  - en la activación de células B, 286
- cDNA, bibliotecas, 556
    - detección, 558-559, 558f
  - clonas, de receptor de célula T, 225-226
    - detección, 558-559
    - formación, 556-558
  - microarreglos, 567-570, 570f
- CDR1, 227, 231f, 232, 235
  - en el complejo TCR-péptido-MHC, 240f, 241
- CDR2, 227, 231f, 232, 235
  - en el complejo TCR-péptido-MHC, 240f, 241
- CDR3, 227, 231f, 232, 234f, 235
  - en el complejo TCR-péptido-MHC, 240-241, 240f
- Célula(s), blanco, definición, 209
    - muerte. *Véase* Reacción efectora
  - cebadas. *Véase* Mastocitos
  - de Kupffer, 36
  - de Langerhans, 39, 39f
    - en la hipersensibilidad tardía, 394
  - de los islotes pancreáticos, trasplante, 440f, 442-443. *Véase también* Trasplante
  - de mieloma, 86, 550f, 551
  - en reposo. *Véanse* Células B vírgenes; Células T vírgenes
  - estromales, 24
  - estromales tímicas, en la selección tímica, 249
  - γδ, 223, 226-228, 226f, 227f, 228c
    - en el síndrome de linfocitos desnudos, 213
  - granulares, 30
  - intersticiales, 39, 39f
  - linfoides, 30-34
    - progenitoras, 24, 25f
  - M, 47-48, 47f
  - mesangiales, 36
  - microgliales, 36
  - mieloides progenitoras, 24, 25f
  - NK. *Véase* Células asesinas naturales (NK)
  - NKT, 35-36, 364-365
  - plasmacitoides, 39, 39f
  - plasmáticas, 12f, 13, 30, 31f, 34, 86
    - producción, 296-297. *Véase también* Célula(s) B, diferenciación
    - producción de inmunoglobulinas en, 133, 134f
  - pre-B, 94, 272-273, 273f, 274f
    - receptor (pre-BCR), 274-275, 275f
  - pre-T, receptor (pre-TCR), 246-247, 247f
  - progenitoras, linfoides, 24, 25f
    - mieloides, 24, 25f
  - sanguíneas, glóbulos blancos. *Véase* leucocito(s)
    - glóbulos rojos. *Véase* eritrocitos
  - transformadas, 556
- Células asesinas naturales (NK), 30, 35-36, 65f, 68, 351, 360-363
  - activación, 362-363
  - células T y, 361
  - defectuosas, enfermedad y, 364-365
  - descubrimiento, 360
  - en cáncer, 537-538
  - en citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo, 35, 95
  - en el rechazo de injerto, 430
  - en el síndrome de linfocitos desnudos, 213
  - en inmunodeficiencias, 495-500
  - en la señalización, 362-364, 363f
  - formación, 25f
  - inhibición, 363-364
  - mecanismos citotóxicos, 362-362
  - modelo de dos receptores, 362
  - modelo de señales opuestas, 362-363, 363f
  - producción de citocinas por, 360-361
  - receptores, 362-364, 363f
  - y linfocitos T citotóxicos, 361-362
- Célula(s) B, 12-13, 30, 34. *Véase también* Linfocito(s)
  - activación, 34, 44, 264, 271, 272f, 278-289
    - CD40/CD40L en, 286, 286f, 296
    - células T colaboradoras en, 278, 285-287, 285f, 290-291, 291f
    - citocinas en, 286-287
    - conjugados T-B en, 285-286, 286f
    - dependiente del timo, 278, 279, 279f, 285-287, 285f
    - en autoinmunidad, 419
    - en el bazo, 45-46
    - en el ciclo celular, 279
    - en inmunorreacciones primarias y secundarias, 289-290, 289f, 290c
    - en órganos linfoides secundarios, 23, 40f, 42-49
    - fosforilación en, 280f, 281, 282f
    - independiente del timo, 278-279, 279c
    - lipopolisacárido en, 278
    - por células M, 47-48, 47f
    - receptores/correceptores en, 279-284
    - señalización en, 279-281, 279f, 280f, 282f
    - sitios anatómicos, 292, 292f
    - y activación de células T, 281
  - antigénicamente comprometidas, 16, 17f
  - apoptosis, 276-278, 296
  - autorreactivas, 276-278
    - activación, 414-419. *Véase también* Autoinmunidad
    - eliminación, 401-407. *Véase también* Tolerancia
    - selección negativa, 287-289, 287f, 288f
  - B1, 275-276, 276f
  - B2, 275-276, 276f
  - cambio de clase por. *Véase* Cambio de clase
  - células asesinas naturales y, 361
  - centroblasto, 293, 294f
  - clonas, 35
  - correceptor, 281-284
  - de memoria. *Véase* Células B de memoria
  - deleción clonal, 276-278
  - desarrollo, etapas, 272f
    - fase dependiente de antígeno, 271, 272f

- Células(s), desarrollo (*cont.*)
    - fase independiente de antígeno, 271, 272f
  - diferenciación, 15f, 34, 271, 272f, 289-290
    - apoptosis en, 296
    - cambio de clase en, 296, 296f
    - en células plasmáticas o de memoria, 296-297, 297c
    - en centros germinales, 292-297, 294f
    - hipermutación somática en, 293-296, 295f
    - inducida por antígeno, 292-297
    - maduración de afinidad en, 293-296
    - selección en, 295-296
    - sitios anatómicos, 292, 292f
  - edición de receptor en, 404
  - efectoras, 12f, 13, 30, 31f, 34. *Véanse también* Células plasmáticas; Reacción efectora
    - moléculas efectoras producidas por, 353, 353c
  - en centros germinales, 293-297, 294f
  - en el bazo, 45
  - en la activación de células T, 263c, 264
  - epítopos, 81-84. *Véase también* Epítopo(s), de células B
  - especificidad, reordenamiento génico y, 117-118, 117f, 118f
  - estructura, 12-13, 12f
  - expresión de genes de inmunoglobulina en, 130-135
  - expresión simultánea de IgM e IgD por, 133
  - formación, 25f
  - hibridomas, formación, 550-551, 550f
  - hipermutación somática en, 295, 295f
  - inmunodeficiencia, 495-500
  - linfoma. *Véase también* Linfoma
    - *bcl-2* en, 27
    - diagnóstico, análisis de microarreglos en, 568-569
  - maduración, 15f, 16, 17f, 112f, 246, 271-278, 272f
    - cadena ligera sustituta en, 274, 275f
    - células B autorreactivas en, 276-278
    - células estromales de la médula ósea en, 272-273, 273f
    - de afinidad, 126, 271, 293-296, 294f
    - en la agammaglobulinemia ligada al sexo, 284
    - factores de transcripción en, 274f, 275
    - IgD en, 273
    - IgM en, 273, 276-277
    - marcadores de superficie celular en, 274f, 275
    - receptor de célula pre-B en, 274-275, 275f
    - reordenamientos génicos en, 116-122, 272-273, 273f, 274f, 278, *Véase también* Genes de inmunoglobulina, reordenamiento
    - transgénicos $H\text{-}2^k$ en, 277-278, 277f, 277c
  - origen en la médula ósea, 40-42
  - población circulante, 271
  - precursoras, 272-273, 273f, 274f. *Véase también* Célula pre-B
    - receptores de, 274-275, 275f
  - presentación de antígeno por, 209, 263c, 264. *Véase también* Células presentadoras de antígeno (APC)
  - producción, 271
  - progenitoras (células pro-B), 272
  - proliferación, sitios anatómicos, 292, 292f
  - receptor (BCR), 12-13, 12f, 102-103
    - diversidad, 14-16
    - en la activación de células B, 279-284
    - especificidad antigénica, 14-16
    - estructura, 102, 102f, 279-281, 280f
    - heterodímero Ig-α/Ig-β de, 102, 103, 104f, 275, 279
    - motivo de activación de inmunorreceptor basado en tirosina, 235, 279, 280f
    - precursor, 274-275, 275f
  - reconocimiento de antígeno por, 81-84, 82c, 208
    - asociativo (ligado), 291, 290c, 291f
  - selección clonal, 16-17, 17f
  - selección negativa, 276-278, 287-289, 287f, 288f
    - maduración de afinidad y, 295-296
  - tolerancia en, 401-407. *Véase también* Tolerancia
  - virgen (en reposo), 18, 30, 271, 279, 289, 290c
    - propiedades, 297c
    - recirculación, 336
- Células B de memoria, 13, 17, 17f, 18, 18f, 30, 31f, 34c, 94, 290c
  - activación, 290
  - en la inmunización, 290
  - pecado antigénico original y, 290
  - producción, 289-290, 296-297. *Véase también* Célula(s) B, diferenciación
  - propiedades, 297c
  - selección clonal y, 17, 17f, 18, 18f
- Células dendríticas, 38-40, 39f, 56-57, 65f, 68-69, 263-264, 263c. *Véase también* Células presentadoras de antígeno (APC)
  - autorización, 353, 354f
  - de Langerhans, 39, 39f, 394
    - en la hipersensibilidad tardía, 394
  - en el rechazo de injerto, 427, 431
  - en el tratamiento del cáncer, 504
  - en la activación de linfocitos T citotóxicos, 354, 354f
  - en la infección por VIH, 514, 514f
  - foliculares, 40, 295-296
  - formación, 25f
  - funciones, 39-40, 68-69
  - intersticiales, 39, 39f
  - maduración, 40
  - plasmacitoides, 39, 39f
  - presentación cruzada en, 217
  - presentación de antígeno por, 209
  - producción de citocinas por, 306
  - tipos, 39, 39f
- Célula(s) madre, antígeno 1 (Sca-1), 28
  - embrionarias (ES), 32
    - en ratones con desactivación génica, 564-565, 565f
  - en terapia génica, 33
  - hematopoyéticas, 23
    - autorrenovables, 24, 25f
    - de sangre periférica, 33
    - en terapia génica, 33
    - enriquecidas, 28-30, 29c, 30c
    - potencial de regeneración, 32-33
    - progenitoras linfoides, 24, 25f
    - progenitoras mieloides, 24, 25f
    - trasplante, 32-33. *Véase también* Trasplante de médula ósea
  - multipotentes, 32
  - pluripotentes, 32, 33f
  - totipotentes, 32
  - trasplante, 32-33. *Véase también* Trasplante de médula ósea
  - unipotentes, 32
- Células presentadoras de antígeno (APC), 207, 209. *Véanse también* Células B; Células dendríticas; Macrófago(s)
  - autorización, 353, 354f
  - B7 y, 259, 259f, 263-264
  - células T γδ como, 223
  - definición, 209
  - en el rechazo de injerto, 431
  - en el tratamiento del cáncer, 540
  - en la activación de células T, 13f, 14, 68-69, 259-260, 259f, 260f, 263-264, 263c
  - estudios pioneros, 207, 209
  - moléculas de adhesión celular y, 238, 239f
  - moléculas MHC clase II y, 13f, 14, 35, 207-209
  - no profesionales, 209, 209c
  - presentación cruzada en, 217, 217f
  - profesionales, 209, 209c, 263-264. 263c. *Véanse también* Células B; Células dendríticas; Macrófago(s)
  - propiedades coestimulatorias, 263-264
  - tipos, 209, 209c
- Célula(s) T, 30. *Véase también* Linfocito(s)
  - activación, 14, 15f, 35,44, 208, 208f, 254-261, 281
    - anergia clonal y, 259-260, 260f
    - células presentadoras de antígeno en, 13f, 14, 68-69, 259-260, 259f, 260f, 263-264, 263c
    - cinasa de proteína C en, 257f, 258
    - complejos péptido-MHC en, 238-241
    - de células vírgenes, 262
    - en el bazo, 45-46
    - en el tratamiento de enfermedades autoimunitarias, 421
    - en órganos linfoides secundarios, 23, 40f, 42-49
    - expresión génica en, 254, 255c
    - factor nuclear κB en, 257f, 258
    - fosfolipasa Cγ en, 257, 257f
    - genes inmediatos en, 254
    - inhibición, en inmunosupresión para trasplantes, 438
    - inicio, 255-257, 256f
    - interleucina en, 262
    - iones calcio en, 257f, 258
    - procesamiento de antígeno en, 208, 208f
    - reacción primaria en, 262
    - reacción secundaria en, 262
    - señales coestimulatorias en, 258-259, 259f
    - señalización en, 254-259, 256f-259f, 352-353, 354f, 406

    superantígenos en, 260-261, 261f, 261c
    TCR-CD3 en, 254-257
    vía de Ras/cinasa MAP en, 257f, 258, 258f
    y activación de células B, 281
  αβ, 223, 224, 226-228, 226f, 227f, 228c
  alorreactividad, 241-242, 242f, 431
  anérgicas, 259-260, 260f
  antígeno de activación (TAC). *Véase* CD25
  apoptosis, 264-267. *Véase también* Apoptosis
  autorreactivas, activación, 414-419. *Véase también* Autoinmunidad
    eliminación, 401-407. *Véase también* Tolerancia
  autorrestringidas a MHC, 206f, 207, 207f, 224, 224f, 245, 248-250
  autotolerantes, 78-79, 248-249, 250
  $CD4^+CD5^+$, 263
  células asesinas naturales y, 361
  citotóxicas. *Véase* Células T citotóxicas (T_C)
  clonas, 35
    en autoinmunidad, 414
  colaboradoras. *Véase* Células T colaboradoras (T_H)
  correceptores, 237-238, 237f, 237c, 238, 238f, 259, 259f
  de memoria, 262
    en la extravasación de linfocitos, 337-338
  diferenciación, 35, 261-264
  doblemente negativas, 246-248, 247f
  doblemente positivas, 247f, 248-249
  efectoras, 11f, 14, 15f, 262. *Véanse también* Células T citotóxicas (T_C); Células T colaboradoras (T_H); Linfocito(s) T citotóxicos (CTL); Reacción efectora
    blancos, 352, 353
    en la inmunidad mediada por células, 262, 351-359
    producción, 353-354, 354f
    propiedades, 353-353, 352f, 353f
    y células T vírgenes, 352c
  en artritis reumatoide, 401-402
  en autoinmunidad, 413-414
  en el bazo, 45
  en el rechazo de injerto, 426-427, 428f, 431
  en infecciones víricas, 450
  en sangre periférica, 228c
  epítopos, 81, 82c
  especificidad, 231
  estructura, 12, 13f
  etapas del desarrollo, 245, 247f
  expresión de $CD4^+$, 228f, 236-237, 237f. *Véase también* $CD4^+$
  expresión de $CD8^+$, 227f, 228f, 236-237. *Véase también* $CD8^+$
  γδ, 223, 226-228, 226f, 227f, 228c
  hibridomas, formación, 550-551, 550f
  inmunodeficiencia, 495-500
  inmunosupresoras, 263
  maduración, 15f, 16, 34-35, 345-348, 247f, 248f. *Véase también* Timocitos
  origen tímico, 40f, 40-42, 41f
  progenitoras, 245
  proteínas accesorias, 236-239. *Véase también en* CD
    en la superfamilia de las inmunoglobulinas, 103, 104f
  receptor. *Véase* Receptor de célula T
  reconocimiento de antígeno por, 15f, 16, 81, 82c, 208-209, 241-242, 242f, 352-353
    asociativo (ligado), 291, 290c, 291f
    de antígenos no peptídicos, 217-218, 218f, 226
  reguladoras (T_{reg}), 13, 35, 263
    en la regulación cruzada de células T colaboradoras, 317
    en la tolerancia, 406
  selección tímica. *Véase* Selección tímica
  superantígenos en, 261
  supresoras (T_s), 263
  tolerancia en, 401-407. *Véase también* Tolerancia
  transcripción del gen de inmunoglobulina en, 135-136
  unipositivas, 248, 253, 254f
  vírgenes, 30, 262
    activación, 262, 262f
    definición, 262
    recirculación, 336-337
    y células T efectoras, 352c
Células T citotóxicas (T_C), 13, 30, 35. *Véase también* $CD8^+$
  activación, 208
    por células dendríticas, 68-69, 353-354, 354f
  en infección por VIH, 514, 516c
  en rechazo de injerto, 426-427, 428f
  formación, 25f
  presentación de antígeno a, 209-212, 210f-212f, 216f
  reconocimiento de antígeno por, 208
  restricción a MHC propio y, 224
  transformación en linfocitos T citotóxicos, 353-354, 354f
Células T colaboradoras (T_H), 30, 35. *Véanse también* $CD4^+$; Células T efectoras
  activación, 14, 44, 208, 208f, 254-261. *Véase también* Célula(s) T, activación
    en el bazo, 46
    inhibición, en inmunosupresión para trasplantes, 438
    por células dendríticas, 68-69, 263-264, 263c
    procesamiento de antígeno para, 208-209
  conjugados hapteno-portador y, 290-291, 290c, 291f
  en autoinmunidad, 413-414
  en el rechazo de injerto, 426-427, 428f, 431
  en hipersensibilidad, mediada por IgE, 384
    tardía, 395-396
  en infecciones víricas, 450
  en la activación de células B, 278, 285-287, 285f, 290-291, 291f
  en la activación de células T citotóxicas, 353-354, 354f
  en la esquistosomosis, 464, 465f
  en la infección por VIH, 318, 512, 512f, 513c, 514-515, 516c
  en la leishmaniosis, 462
  en la tuberculosis, 458-459
  formación, 25f
  moléculas efectoras expresadas por, 353, 353c
  presentación de antígeno a, 209, 210f, 212f-217f, 214-217
  producción de citocina por, 306
  propiedades, 352-353, 353c
  reconocimiento de antígeno por, 208, 208f
  subgrupos, 262, 314-318
    desarrollo, 316-317, 316f
    en la infección por VIH, 318
    en la lepra, 318, 318f
    funciones, 314-315, 315c
    regulación cruzada, 317-318
    secreción de citocina por, 314-315, 315c
    secreción de quimiocina por, 332
Centroblastos, 293, 294f
Centrocitos, selección, 294f, 295-296
Centros germinales, 43, 292-297
  diferenciación de células B en, 296-297
  maduración de afinidad en, 293-296, 294f
  procesos celulares en, 294f
  producción de células B de memoria en, 296-297
  producción de células plasmáticas en, 296-297
  selección en, 294f, 295-296
  zona clara en, 293, 294f
  zona oscura en, 293, 294f
c-erbB, en cáncer, 527, 528c, 530
Cercopinas, 61c
Cerdos, xenoinjertos de, 435, 444
Cetuximab, para cáncer, 542c
Ciclofosfamida, en inmunosupresión, 434
Ciclooxigenasa, inhibidores, 347-348, 348f
Ciclosporina A, en trasplante, 436, 436f
  para autoinmunidad, 420
Cilios, 53
Cimógenos, 169
Cinasa(s) de proteína, en el receptor de citocina, 312-313
  en la activación de células T, 257f, 258
Cinasas Janus, en señalización por citocinas, 312-314, 313c
  inhibidores, en inmunosupresión para trasplante, 437-438
Cinasas Tec, 284
Cininas, sistema, 338, 338f
Ciona intestinalis, inmunidad innata en, 71, 71f
Citadinos, asma en, 384-385
Citidindesaminasa inducida por activación (AID), 128-129
Citocina(s), 10, 57, 302-325, A-27-A-31. *Véanse también tipos específicos*; Receptores de citocina
  acción autocrina, 303, 303f
  acción coordinada, 307
  acción endocrina, 303, 303f
  acción paracrina, 303, 303f
  acciones pleiotrópicas, 303, 304f
  afinidad, 302-303
  antagonismo, 303, 304f
  antagonistas, 314
  anticuerpos contra, en inmunosupresión para trasplantes, 437
  células asesinas naturales y, 360-361
  de inmunidad adaptativa, 307c

Citocinas(s) (*cont.*)
  de inmunidad innata, 307c
  defectuosas, en cáncer, 319
    en choque séptico, 318-319
    en choque tóxico, 319
    en enfermedad de Chagas, 320
  definición, 302
  en autoinmunidad, 418-419, 419f
  en el rechazo de injerto, 431-433, 432f
  en fagocitosis, 14
  en hipersensibilidad, 380, 380c, 384
    tardía, 395-396, 396f
  en inflamación, 306, 307c, 339-346, 339c
    aguda, 340-344, 341f, 342f, 344f
    crónica, 344-346
    en reacciones de fase tardía, 383
    en reacciones sistémicas, 340-342, 341f
  en la activación de células B, 286-287
  en la activación de células T, 254-258, 255c, 262
  en la infección por VIH, 516c
  en la multiplicación vírica, 512
  en la regulación cruzada de células T colaboradoras, 317-318, 317f
  en la regulación del MHC, 204
  en señalización, 310-311, 310f, 312-314, 312f, 313f, 313c
  ensayos, 305, 305f
  especificidad, 307, 313-314
  estructura, 305-306, 305f
  estudios pioneros, 304-305, 305f
  familias, 305-306
  fuentes, 306
  funciones, 303, 306-307, 306f, 307f
  hematopoyéticas, 321-323, 324f
  imitación por virus, 314, 314c
  inducción en cascada, 303, 304f
  inhibidores, 314
  linfocinas, 302
  monocinas, 302
  número y variedad de, 306
  proinflamatorias, 59, 68
  propiedades, 302-307
  quimiocinas, 302
  redundancia, 303, 304f
  regulación, 307
  secreción por células T efectoras, 353
  secreción por subgrupos de células T colaboradoras, 314-318
  sinergia, 303, 304f
  sobreproducción, en infecciones bacterianas, 318-319, 457
  unión a receptor, 302-303, 303f
  usos terapéuticos, 320-321, 320f
    en cáncer, 540-541, 541f
  vida media, 307
Citomegalovirus, infección. *Véase* Infección por citomegalovirus
Citometría de flujo, 161-162, 162f
  en leucemia, 163
Citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo (ADCC), 35, 95, 98, 366, 366f
  en el rechazo de injerto, 431-433, 432f
c-Kit, en la maduración de las células B, 273, 274f, 275
Clasificación celular, 161
CLIP, 215
Clonas/clonación, 35
  de DNA, 556-559, 557f, 558f
c-*myc*, en cáncer, 528, 529, 531, 531f
c-*neu*, en cáncer mamario, 530
Coadyuvante, completo de Freund, 81
  incompleto de Freund, 81
  inmunógeno, 81
Coagulación, 338
  sistema, 338
Colectinas, 9
Colitis ulcerosa, 346c
Colon, cáncer. *Véase* Cáncer, colónico
Compatibilidad de HLA, en trasplante, 428-429
  reacción linfocítica mixta en, 429f, 430
Complejo de ataque a membrana (MAC), defectos en, 186
  en la activación del complemento, 172f, 175-176, 176f
  en la lisis celular, 180-182
  formación, 172f
Complejo H-2, 190f. *Véase también* Complejo mayor de histocompatibilidad (MHC)
  genes, 202-203
  haplotipos, 191-192, 191c, 192f
Complejo mayor de histocompatibilidad (MHC), 13-14, 35, 189-218
  alelos, 205-206
  desequilibrio de ligadura en, 200-201, 205
  diversidad, 199-201, 204
  en autoinmunidad, 205, 414, 418-419, 419f
  en complejos receptor de célula T-péptido-MHC, 238, 241, 240f, 241f. *Véase también* Complejos TCR-péptido-MHC
  en el rechazo de injerto, 428
  en infecciones víricas, 450-451
  en la activación de células T, 245
  en la maduración de células T, 245
  en la selección tímica, 249-250
  expresión celular, 203-205, 203f
  expresión génica en, 203-205, 203f
    regulación, 204-205
  genes, transfección, 562-563
  haplotipos, 191-193, 192f
  herencia, 191-193, 192f
  inmunorreactividad, 206-207
  mapeo genómico, 201-203, 202f
  modelo de huecos en el repertorio, 206
  modelo de selección de determinantes, 206
  modelos animales, 193. *Véase también* Complejo H-2
  moléculas/genes clase I, 13f, 14, 16, 16f, 190, 191, 193-195
    clásicos, 191, 202, 202f
    deficiencia, 213
    diversidad, 199-201, 204
    en células tumorales, 538, 539c
    en el rechazo de injerto, 431, 432f, 433
    en el síndrome de linfocitos desnudos, 213
    en la maduración de células B, 277-278, 277f, 277c
    en la selección tímica, 249-251, 250c, 251c
    en la superfamilia de las inmunoglobulinas, 103
    ensamblaje, 212-214, 212f
    estructura, 193-195, 194f-197f
    exones e intrones, 196
    expresión, 203-205, 203f
    mapeo, 201-203, 202f
    no clásicos, 191, 202-203, 202f
    polimorfismo en, 191, 192, 197-201, 205-206
    presentación de antígeno por, 209, 209c
    receptores de célula T y, 236-237, 237c, 241
    transcripción, 204
    transgénicos H-$2^{d/k}$, 277-278, 277f, 277c
    unión de péptidos por, 197-198, 197c, 198f, 215-216
  moléculas/genes clase II, 14, 16, 16f, 190, 191
    células presentadoras de antígeno y, 13f, 14
    diversidad, 199-201, 204
    en el rechazo de injerto, 431, 432f, 433
    en la activación de células B, 285-287
    en la autoinmunidad, 418
    en la inmunorreactividad, 206-207
    en la selección tímica, 249-251, 250c
    en la superfamilia de las inmunoglobulinas, 103
    ensamblaje, 215-217, 215f, 216f
    estructura, 194f, 195-196, 196f, 197f
    exones e intrones, 196
    expresión, 203f, 204-205
    mapeo, 202f, 203
    microglobulina β_2 en, 193-195, 194f, 195f
    polimorfismo en, 191, 192, 197-201, 205-206
    presentación de antígeno por, 209, 209c
    receptores de célula T y, 236-237, 237c, 241
    transcripción, 204
    unión de péptidos por, 197, 197c, 198-199, 215-216
  moléculas/genes clase III, 191
  organización, 190-191, 190f
  panorama general, 189
  poligénico, 200
  polimorfismo en, 191, 192, 197-201
    susceptibilidad a enfermedades y, 205-206, 206f
  presentación de antígeno en, 189, 207-217
  procesamiento de antígeno en, 189, 208-217
  promotores en, 204
  reconocimiento de antígeno por, 16, 16f
    restringido a MHC clases I/II, 207
  restricción a MHC propio y, 206f, 207, 207f, 224, 224f
    selección tímica y, 248-250
  susceptibilidad a enfermedades y, 205-206
  tetrámeros, linfocitos T citotóxicos CD8$^+$ en, 355, 355f
  transcripción en, 204
  transporte de péptidos hacia, 211-212, 211f
Complejo receptor de célula T-CD3 (TCR-CD3), 235, 236f
  en la activación de células T, 254-257

  en la selección tímica, 249
  linfocitos T citotóxicos y, 356
Complejos antígeno-anticuerpo en matriz sólida, en la producción de vacunas multivalentes, 487
Complejos inmunoestimuladores (ISCOM), 487, 487f
Complejos TCR-péptido-MHC, 238-241
  anergia clonal y, 259-260, 260f
  correceptores y, 238, 239f
  en la activación de células T, 254-260, 255c, 256f-258f
  estructura, 240-241, 240f, 241f
Complemento/sistema del complemento, 9, 55, 62c, 95, 168-187
  activación, 55-57, 95, 97, 169-176
    complejo de ataque a membrana en, 172f, 175-176, 176f
    consecuencias biológicas, 180-185, 180c
    etapas, 170f, 176f
    regulación, 177-180, 177c, 178f, 179f
    vía alterna, 169, 170f, 173-176, 174f, 176f
    vía clásica, 169-173, 170f, 172f, 176f
    vía de lectina, 169, 170f, 175, 176f
  complejos funcionales, en, 169
  componentes, 55-57
  deficiencias, 185-186, 502
    en hemoglobinuria paroxística nocturna, 183
  definición, 168
  en depuración inmunitaria, 185, 186f, 391
  en hipersensibilidad, citotóxica mediada por anticuerpos, 388-393
    mediada por inmunocomplejos, 391-392
  en infecciones bacterianas, 181-182, 181f, 182c, 455, 456f, 457, 457c
  en infecciones micóticas, 466
  en inflamación, 180c, 182-184
  en la inmunodepuración, 185, 186f, 391
  en la neutralización vírica, 180c, 184-185, 185f
  en lupus eritematoso sistémico, 185, 186, 410-411
  fragmentos peptídicos en, 169, 182-184
  funciones, 168-169, 169f
  notación y símbolos, 169
  receptores, 180, 181c
    en infecciones micóticas, 466
    en la neutralización vírica, 184
    en lupus eritematoso sistémico, 185
    tipo 1, 177c, 178f, 179
  regulación, 177-180, 177c, 178f, 179f
  terminología, 169
Componente secretorio, 99
c-*onc*, 527, 528c
Conducto torácico, 42
Conjugados, formación, en la muerte mediada por CTL, 356-357, 356f, 357f
Conjugados hapteno-portador, 77, 77f
  células T colaboradoras y, 290-291, 290c, 291f
Constante de afinidad (K_a), 146-148, 146c, 147f, 148f
Constante de asociación (K_a), 146, 146c
Constante de disociación (K_d), 146-147, 146c
Conversión génica, 127
  desaminasa de citidina inducida por activación en, 128-129
Coombs, prueba, 390
Cordón umbilical, transfusión de sangre, 33, 443
Coriomeningitis linfocítica, en mujeres, 416
Córnea, trasplante, 440f
Coronavirus, 470
Corticosteroides, acción antiinflamatoria, 347
  en inmunosupresión para trasplantes, 436
  para hipersensibilidad, 388, 388c
Corynebacterium diphtheriae, 458
Cósmidos, vectores, 556, 558c
Cox 1/2, inhibidores, 347-348, 348f
Coxsackie, virus, infección en mujeres, 416
CR1, 181c
CR2, 181c
  en el complejo correceptor de célula B, 281-284, 283f
CR3, 181c
  en la deficiencia de adhesión leucocítica, 501, 502c
CR4, 181c
  en la deficiencia de adhesión leucocítica, 501, 502c
CR5a, 181c
Cre/*lox*, sistema, selección de genes con, 565-566
Cresswell, Peter, 217
Criptococosis, 466-467
Cristalografía de rayos X, 553-555, 555f
Cromoglicato disódico, para hipersensibilidad, 388, 388c
Cromolín sódico, para hipersensibilidad, 388, 388c
CS, antígeno, en paludismo, 460
c-*src*, 527, 528c
CTL. *Véase* Linfocito(s) T citotóxicos (CTL)
CTLA-4, 237c
  en la activación de células T, 259, 259f
  en la tolerancia, 406
Cucarachas, asma y alergia a, 385
Cuello uterino, cáncer. *Véase* Cáncer, cervicouterino
Cultivo celular. *Véase* Líneas celulares
CXC. *Véase* Quimiocinas CXC
CXC4, 330c
  en la infección por VIH, 512
CXCR4, en la infección por VIH, 512
Chase, Merrill, 6
Chesebro, Bruce, 512
Chimpancés, retrovirus en, 509
  xenoinjertos de, 435, 444
Choque, anafiláctico, 381. *Véase también* Anafilaxis
  séptico, citocinas en, 318-319

D, segmentos génicos. *Véase* Segmentos génicos D
Daclizumab, 141c
Dameshek, William, 434
Dausset, J., 19
Davis, M.M., 224-225
DCC, gen supresor tumoral, 528c, 530
Defensinas, 59-61, 61c
Deficiencia de adhesión leucocítica bovina, 343
Delavirdina, para infección por VIH, 517c, 518
Deleción clonal, de células B, 276-278, 277f, 277c
  de células T, 245, 250-251, 250f
Deriva antigénica, en el virus de la gripe, 452, 453, 453f
Dermatitis, alérgica por contacto, hipersensibilidad tardía en, 393-396, 393c, 396, 397f
  atópica, 383
  por contacto, 393-396, 393c, 396, 397f
Dermis, 53
des-Arg, formas, 182-183
Desequilibrio de ligadura, 200-201, 205
Desgranulación, en hipersensibilidad, 340, 373, 377-379, 377f, 378f
    en hipersensibilidad, inhibidores, 388
  en inflamación, 340
Desregulación inmunitaria, poliendocrinopatía y enteropatía, síndrome ligado al sexo (IPEX), 407
Detergente-proteína, complejos, en la producción de vacunas multivalentes, 487, 487f
Determinantes antigénicos, conformacionales, 82-83, 83f. *Véase también* Epítopo(s)
Determinantes menores de estimulación de linfocitos, 261
Dexametasona, en inmunosupresión para trasplantes, 436
Diabetes mellitus, 346c, 403c
  como enfermedad autoinmunitaria, 408-409, 410f
  genes KIR-MHC en, 364-365
  modelos animales, 412-413, 412c, 418-419, 419f
  trasplante de células de los islotes pancreáticos para, 440f, 442-443
Diálisis, de equilibrio, 147-148, 147f, 148f
Dick, John, 24
Didanosina, para infección por VIH, 517c, 518
Difteria, 458
  epidémica, 480
  inmunización contra, 4c, 458, 478, 479, 479c
  inmunización pasiva contra, 477-478, 478c
  resurgimiento, 470
Disfunción inmunitaria, 18-20
Disgenesia reticular, 494f, 495
DN, células, 246
DNA, amplificación, 559-560, 560f
  análisis de huellas, 560-561, 561f
  análisis de secuencias, 560-562, 561f
  clonación, 556-559, 557f, 558f
  complementario. *Véase en* cDNA
  escisión, 555-556, 556c
  genómico, clonación, 556-558, 555f
    detección de bibliotecas, 558-559, 558f
  hibridación sustractiva, 225-226, 225f
  recombinante. *Véase* Tecnología de DNA recombinante
  secuenciación, 559, 559f
  sondas, 558-559, 558f
  vacunas, 482c, 488, 489f
  virus, cáncer y, 527

Doble inmunodifusión, 151-152, 152c
Doherty, P., 189, 207, 224
Dominios de región constante, 87-89, 88f, 89f, 93-94
  de cadena ligera, 93
  de cadena pesada, 93, 94
  del receptor de célula T, 226-228, 226f, 227f
  dominios carboxilo terminal y, 94
  región de bisagra, 89f, 93-94, 93f, 97f
Dominios de región variable, 87-89, 89-90, 89f
  del receptor de célula T, 226-228, 226f, 227f
    en autoimunidad, 414
  regiones armazón, 90
  regiones determinantes de complementariedad, 85, 90-93, 91f
  regiones hipervariables, 90, 91f
  variabilidad en, 89-90, 89f
DP, 202f, 203
DQ, 202f, 203
DR, 202f, 203
Dreyer, W., 113
Drogas, ensayos de inhibición de la aglutinación en pruebas con, 154
Drosomicina, 61c
Drosophila melanogaster, inmunidad innata en, 71, 71f

E2A, 274f, 275
Ecuación y gráfica de Scatchard, 147-148, 148f
Eculizumab, para hemoglobinuria paroxística nocturna, 183
Eccema alérgico, 383
Edema, 340, 341f
  en inflamación, 57
Edición de receptor, 404
Efavirenz, para infección por VIH, 517c, 518
Efecto, de portador, 291
  prozona, 153
Ehrlich, Paul, 6, 168, 401
Eisen, H.N., 293
Electroforesis, en cohete, 152-153, 152c
  en gel, 551-553, 552f, 553f
Elion, Gertrude, 434
ELISA (ensayo de inmunosorbente ligado a enzima). *Véase también* Ensayo de inmunosorbente ligado a enzima (ELISA)
  competitivo, 156
  en sándwich, 156
  indirecto, 156
ELISPOT, prueba, 157, 158f
Embarazo, enfermedad autoinmunitaria y, 417
  sistema inmunitario en, 417
  VIH en, 507
Encefalomielitis autoinmunitaria experimental, 412c, 413, 413f, 414
  tratamiento, 421, 421f
Endocitosis, 9
Endotelio venular alto (HEV), en inflamación crónica, 346, 346c
Endotoxinas, en choque séptico, 319
  resistencia a, 63
Enfermedad(es) autoinmunitaria(s), 407, 413. *Véanse también enfermedades específicas*
  AIRE en, 407
  anticuerpos monoclonales para, 420-421, 421f
  antígenos orales para, 421-422
  antígenos propios en, 403c
  células T colaboradoras en, 413-414
  células T γδ en, 223
  complejo mayor de histocompatibilidad en, 205, 414
  en mujeres, 415, 416-417
  específica de órgano, 407-410
  espontánea, 407
  factores genéticos en, 205, 407
  HLA-A-27 en, 205, 414
  inflamación crónica en, 420-421
  inmunocomplejos en, 393
  inmunorreacción en, 403c
  inmunosupresión para, 419-420
  modelos animales, 411-413
  patogenia, 414-419
  plasmaféresis para, 420
  sistémica, 410-413
  timectomía para, 420
Enfermedad cardiovascular, proteína C reactiva en, 66-67
Enfermedad de Addison, 403c
Enfermedad de Crohn, 346c, 347
Enfermedad de Chagas, 320
Enfermedad de Graves, 346c, 403c, 409, 410f
Enfermedad de Hodgkin, 530. *Véase también* Linfoma
Enfermedad de injerto contra huésped, 19, 33, 367-368, 441-442
  citotoxicidad mediada por células en, 367-368
  estudios ex vivo, 367-368
  índice esplénico en, 368
Enfermedad del sueño, 462
Enfermedad granulomatosa crónica, 66, 494f, 495c, 496f, 501, 503
  interferón γ para, 322-323
  ligada al sexo, 494f, 495c, 494f, 501
    interferón γ para, 322-323
Enfermedad hemolítica del neonato, 389-391, 390f
Enfermedades infecciosas. *Véanse también enfermedades específicas*
  bacterianas, 455-460. *Véase también* Infecciones bacterianas
  defensas de los patógenos en, 447
  en bioterrorismo, 468-469
  inmunocomplejos en, 393
  inmunorreacción en, 447-472
  micóticas, 7, 465-467, 466c
    hipersensibilidad tardía en, 393-396, 393c
    mortalidad por, 448c
  mortalidad por, 447-448, 448f
  parasitarias, 460-465
  patógenos en, 7, 7c
    en vacunas, 2-3
    mecanismos de entrada al huésped, 9
    tipos, 7c
  por protozoarios, 460-462
  relacionadas con VIH, 512-515, 513c
  surgimiento/resurgimiento, 448, 467-471, 467f
    difteria, 470
    en bioterrorismo, 468-469
    enfermedad de los legionarios, 470
    infección por el virus nilooccidental, 449, 470
    infección por virus Ébola, 470
    inmunizaciones inadecuadas y, 479-480
    mortalidad por, 448f
    SARS, 470-471, 471f
    tuberculosis, 469-470
  susceptibilidad, en deficiencia de TAP, 213
  víricas, 448-454. *Véase también* Infecciones víricas
Enfermedad pulmonar. *Véase* Neumopatía
Enfermedad respiratoria, inmunización activa contra, 478, 479c, 485
  inmunización pasiva contra, 477-478, 478c
  relacionada con VIH, 513-514
Enfermedad(es), riesgo relativo, 205
Enfermedades de transmisión sexual, VIH/SIDA y, 506. *Véase también* Infección por el virus de la inmunodeficiencia humana
Enfuvirtida, para infección por VIH, 517c, 518
Enlaces, cruzados, de antígenos, 99, 100f
  de hidrógeno, en interacciones antígeno-anticuerpo, 145, 146f
  iónicos, en interacciones antígeno-anticuerpo, 145, 146f
Ensayo de inmunosorbente ligado a enzima (ELISA), 155-158
  citocinas, 305, 305f
  competitivo, 156
  ELISPOT, 157, 158f
  en sándwich, 156
  indirecto, 156
  quimioluminiscencia en, 156-157
Enterotoxinas estafilocócicas, 261c
Entricitabina, para infección por VIH, 517c, 518
Enzimas de restricción, 555-556, 556c
Eosinófilo(s), 37, 38, 38f
  en reacciones de fase tardía, 383
  formación, 25f
Epidermis, 53
Epinefrina, 388, 388c
Epitelio, 53-54, 54f, 55f
Epítopo(s), 81-84
  alotípicos, 101, 101f
  de células B, 81-84
    inmunodominantes, 84
    localización, 84
    movilidad, 84
    no secuenciales, 82-83, 82f
    propiedades, 81-84
    secuenciales, 82-83, 82f
    secuencias de aminoácidos, 81-82
    superpuestos múltiples, 84
  de células T, 81, 82c
  de inmunoglobulina, 100-102, 101f
  definición, 76
  determinación de la especificidad, 150, 151f
  idiotípicos, 101-102, 101f
  inmunodominantes, 84
  isotípicos, 101, 101f
  localización, 84, 101f
    mapeo, 150, 151f
  mapeo, 150, 151f
  no secuenciales, 82-83, 82f
  secuenciales, 82, 82f

ERAP, 212-214
ERAP2, 212
erbB, en cáncer, 527, 528c, 530
Eritroblastosis fetal, 389-391, 390f
Eritrocitos, aglutinación, 97
  antígenos ABO y, 149. *Véase también* Antígenos de grupo sanguíneo ABO
  competencia antigénica entre, 297, 298c
  en la aglutinación pasiva, 153f, 154
  formación. *Véase* Hematopoyesis
  hemaglutinación en la tipificación, 153-154
Eritropoyetina, 321-323, 321c, 324c
  receptores, 308-312, 308f, 309f. *Véase también* Receptores de citocina, clase I
ERp57, 212, 212f
Escisión, de DNA, 555-556, 556c
Esclerodermia, 403c
  tratamiento, 419-422
Esclerosis múltiple, 403c
  como enfermedad autoinmunitaria, 411, 414
  complejo mayor de histocompatibilidad en, 205
  en mujeres, 416-417
  factores genéticos en, 205
  modelo animal, 412c, 413
  tratamiento, 419-422
    antiinflamatorios en, 347
    interferón β en, 322-323
Escherichia coli, en la clonación de DNA, 556-558
  producción de fagos en, 138, 139f
  resistencia al complemento en, 181, 181f
  resistencia de la piel a, 53, 53f
Especificidad, antigénica, 10-12, 10c, 15f, 16
    selección clonal y, 16-17, 17f
  de anticuerpo, 6, 10-12
Espinigerina, 61c
Esplenectomía, efectos adversos, 46
Espondilitis anquilosante, 403c, 414
  tratamiento, 419-422
Esporozoítos, en paludismo, 460, 460f
Esquistosomosis, 462-465, 465f
Estatinas, 67
  para enfermedad autoinmunitaria, 421
Estavudina, para infección por VIH, 517c, 518
Esterilidad autoinmunitaria, 403c
Esteroides, acción antiinflamatoria, 347
  en inmunosupresión para trasplantes, 436
  para hipersensibilidad, 388, 388c
Estradiol, en enfermedad autoinmunitaria, 416-417
Estreptavidina, 164
Estrógeno, autoinmunidad y, 416-417
Estroma, células, 24
Estudios genéticos, búsqueda genómica al azar en, 385
  método de gen candidato en, 384-385
Exantema en mariposa, 420, 411f
Exclusión alélica, células B, 121-122, 122f
  células T, 231
Exocitosis, 37, 37f
Exones, en el receptor de célula T, 231-232, 231f
Exotoxinas, en la activación del receptor de célula T, 260-261, 261c
  pirógenas estreptocócicas, 261c
Explosión respiratoria, 65-66, 340
Expresión génica, análisis de microarreglos, 567-570, 570f
  perfil, 568
Extravasación, 38, 57, 58f, 59
  de leucocitos, 38, 57, 58f, 59, 60f, 327-329, 329c, 331-334, 332f, 333f, 340-342, 340f, 341f
    antiinflamatorios y, 346-348, 347f, 348f
    fases, 332, 332c
    moléculas de adhesión celular en, 327, 328-329, 329c, 332, 333, 333f, 334
    monocitos en, 333-334, 333f
    neutrófilos en, 332-333, 332f, 333f, 340-341, 341f
  de linfocitos, 334-338, 335f-337f

Factor α de necrosis tumoral (TNF-α), A-31
  anticuerpo contra, 319, 320, 538
    en inmunosupresión para trasplante, 437
    para choque séptico, 319
    para enfermedad autoinmunitaria, 420-421
  en choque séptico, 319
  en hipersensibilidad, 380, 380c
  en inflamación, aguda, 341, 341f, 342f, 344
    crónica, 344
  en la regulación del MHC, 204
  en rechazo de injerto, 432-433, 432f
  fuentes, 307c
  funciones, 307c
  para cáncer, 540-541, 541f
  virus de Epstein-Barr y, 314
Factor de necrosis tumoral β (TNF-β), 315, A-31
  en la regulación del MHC, 204
  en rechazo de injerto, 432
  fuentes, 307c
  funciones, 307c
  para cáncer, 541
  receptores, 308, 308f. *Véase también* Receptores de citocina
    en la apoptosis, 264
Factor acelerador de la degradación, 177c, 178f, 179
  en la hemoglobinuria paroxística nocturna, 183
Factor B, en la activación del complemento, 173, 174f, 175
Factor D, deficiencia, 186
  en la activación del complemento, 173, 174f, 175
Factor de células madre/ligando c-*kit*, 321c, 324f, A-30
Factor de crecimiento transformante β, A-30
  en la inflamación, 342
  funciones, 307c
Factor de Hageman, 338, 338f
Factor de restricción homólogo, 177c, 179
Factor estimulante de colonias, 321c, 323, 324f
  en inflamación, 344, 344f
  receptores, 309-310, 309f, 310f
Factor estimulante de colonias de granulocitos, 321c, 323, 324f, 344, A-29
Factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos, 309-310, 321-323, 321c, 324f, 344, A-29
  para cáncer, 540
Factor H, 177c, 178f, 179
Factor I, 177c
Factor lisoactivador de plaquetas, 339, 339f
Factor neurotrófico ciliar, 309f, 310, A-30
Factor nuclear κB, en la activación de células T, 257f, 258
Factor quimiotáctico de eosinófilos, en hipersensibilidad, 379, 380c
Factor temprano de células B, 274f, 275
Factores de transcripción. *Véase* Transcripción, factores
Factores quimiotácticos, 38
  en hipersensibilidad, 379, 380c
Fago(s), bibliotecas, 137-139
  λ, como vector, 556-558, 557f, 558c
  tecnología de exhibición en, 138-139, 139f
Fagocitos, descubrimiento, 5, 6f
  funciones, 9
  mononucleares, 36, 36f. *Véanse también* Fagocitosis; Macrófagos; Monocitos;
Fagocitosis, 9, 36-37, 58f, 59, 214, 341, 341f
  alterada, inmunodeficiencias por, 500-502
  en hipersensibilidad tardía, 395
  en infecciones bacterianas, 455-457
  en inflamación, 9, 36-37, 37f, 58f, 59, 341, 341f
  etapas, 58f
  macrófagos en, 9, 36-37, 37f, 58f, 59. *Véase también* Macrófago(s)
  neutrófilos en, 65-66, 65f. *Véase también* Neutrófilo(s)
Fagolisosomas, 37, 37f
Fagosomas, 37, 37f
Fas/FasL, 353
  en autoinmunidad, 412
  en la muerte de células blanco, apoptósica, 27c, 36, 264-267, 358-359, 359f, 406
    mediada por células NK, 361
    mediada por CTL, 358-359, 359f
Fetoproteína alfa, 536-537, 537c
Fibrina, 338
Fibrinopéptidos, 338
Fibrosis, 344
Ficoeritrina, 160
Fiebre del heno, 374, 374c, 381
Filaria, estructura, 8f
Fimbrias, 54, 55f
Fischer, Emil, 6, 7f
FK506 para inmunosupresión, en enfermedad autoinmunitaria, 420
  en trasplantes, 436
Flexibilidad de unión, diversidad de anticuerpos y, 14f, 121, 121f, 123, 234f
  diversidad de receptores de célula T y, 234, 234f
Flora bacteriana normal, 53, 447
Flt-3, ligando, 321-323, 321c, 324f
Fluoresceína, 160
Fluorocromos, 160, 571
fms, en cáncer, 527, 528c
Folículos linfoides, 43, 44, 44f
  primarios, 43, 44
  secundarios, 43, 43f, 44, 44f
fos, en cáncer, 528
Fosamprenavir, para infección por VIH, 517c, 518
Fosfolipasa A_2, en hipersensibilidad, 379
Fosfolipasa Cγ, en la activación de células B, 280f, 281, 282f, 284
  en la activación de células T, 257

- Fosfolípidos, en inflamación, 339, 339f
- Fosforilación, en la activación de células B, 280f, 281, 282f
  - mediada por proteincinasa, en la señalización, 69, 313
- Fracción globulínica γ del suero, 85
  - anticuerpos en, 85, 86
- Fragmentinas (granzimas), 353, 357-358, 359, 360f
- Fragmentos Fab, 85, 86, 86f
  - cambios conformacionales en, 92, 93, 92f
- Fragmentos Fc, 85-86, 86f
  - en la activación del complemento, 170
- Fragmentos peptídicos, en el sistema del complemento, 169, 182-184
- Funciones efectoras mediadas por anticuerpo, 76, 94-95
- Fyn, en la activación de células B, 280f, 281, 282f

- G, proteínas. *Véase* Proteínas G
- GAGE-1/2, 537
- GALT (tejido linfoide intestinal), 46-47
- Gammaglobulina, para inmunodeficiencias, 502
- Gammaglobulinemias, 494f, 495c
- Ganglios linfáticos, 43-44, 43f
  - activación de células B en, 44
  - en la infección por VIH, 516c
  - endotelio venular alto en, 334-335, 334f, 335f
    - en inflamación crónica, 346, 346c
  - estructura, 44, 45f
  - linfocitos en, 44, 45f
- Garboczi, Dave, 240
- *GATA-1*, 26c
- *GATA-2*, 24-26, 26c
- *GATA-3*, en la regulación cruzada de células T colaboradoras, 317
- Gel de dodecilsulfato sódico-poliacrilamida (SDS-PAGE), 158
- Gell, P.G.H., 207
- Gell-Coombs, clasificación de reacciones de hipersensibilidad, 371-372, 372f
- Gemtuzumab ozogamicina, para cáncer, 542c
- Gen(es), activadores de la recombinación, 119
    - de inmunoglobulinas, 119
    - de receptores de célula T, 231
  - alelos, 191
  - análisis in vitro, 562-566
  - candidato, método, 384-385
  - clonados, transferencia, 562-566. *Véase también* Clonas/clonación
  - de inmunoglobulina, 111-142. *Véase también* Genes de inmunoglobulina
- Genes de inmunoglobulina, 111-142
  - cadena ligera, 115, 116f
  - cadena pesada, 115-116, 116f
  - en ingeniería genética, 136-141
  - expresión (transcripción), 130-136, 131f, 132f
    - en células B, 130-135
    - en células T, 135-136
    - rapidez, 135
    - regulación, 133-136, 134f, 135f
  - humana, producción en ratones con desactivación génica, 137, 138f
  - línea germinal múltiple, diversidad de anticuerpos y, 123, 124f
  - localizaciones cromosómicas, 115c
  - modelos, de dos genes-un polipéptido, 113-114, 115
    - línea germinal, 113
    - variación somática, 112, 123
  - mutaciones en, 127, 293-295, 295f
    - hipermutación somática y, 125-129, 126f, 293-295, 295f
  - organización multigénica, 115-116
  - panorama general, 111-112
  - reordenamiento, cadena ligera, 117-118, 117f
    - cadena pesada, 118, 118f
    - conversión génica en, 127, 128f
    - descubrimiento, 114-115
    - diferencias entre especies en, 127
    - diversidad de anticuerpos y, 123, 124c
    - diversidad y. *Véase* Diversidad de anticuerpos
    - en el cambio de clase, 128-129, 129f, 130f, 271, 296, 296f
    - en la maduración de células B, 116-122, 272-273, 273f, 274f, 278
    - etapas en, 119-120, 120f
    - exclusión alélica en, 121-122, 122f
    - expresión génica y, 135
    - flexibilidad de unión en, 14f, 121, 121f, 123
    - hipermutación somática y, 125-129, 126f, 293-295, 295f
    - mecanismos, 119-122, 230-231, 234f
    - mutación somática en plantilla en, 127
    - nucleótidos de la región N en, 120, 125, 125f, 234-235, 234f
    - nucleótidos de la región P en, 120, 125, 125f, 234
    - productivo y no productivo, 121
    - rapidez de transcripción y, 135
    - recombinasas en, 119-120
    - tolerancia central y, 403-404
    - uniones de codificación en, 120-121, 120f
    - uniones señal en, 120, 120f
  - transcripción, 130, 136, 131f, 132f
    - intensificadores en, 134-135, 135f
    - producción de inmunoglobulina unida a membrana y secretada y, 134-135, 135f
    - promotores en, 133-134, 135f
    - rapidez, 135
    - regulación, 133-136
- Gen(es), de receptores de célula T, 228-235. *Véase también* Receptor de célula T (TCR)
  - indicador, 562
  - MHC-KIR, enfermedad y, 364-365
  - RCA, 177-180, 178f
  - reguladores de la activación del complemento (RCA), 177-180, 178f
  - relacionados con cáncer. *Véase* Oncogenes
  - secuencias intensificadoras, 133-134, 135f, 136
  - secuencias promotoras, 133-134, 135f
  - seudogenes, 115
    - de inmunoglobulinas, 115, 123
    - de receptores de célula T, 229
  - supresores tumorales, 528, 528c, 530
- Género, diferencias, en enfermedad autoinmunitaria, 415, 416-417
- Genotipo, inmunogenicidad y, 80
- Gentuzumab, 141c
- Gerhard, W., 208
- Glick, Bruce, 6
- Globulina, antitimocito, en inmunosupresión para trasplantes, 437
  - gamma. *Véase* Gammaglobulina
- Glóbulos blancos. *Véase* Leucocito(s)
- Glóbulos rojos. *Véase* Eritrocitos
- Glomerulonefritis posestreptocócica, 403c
- Glucoproteína de superficie variante, en tripanosomosis, 462, 463f
- Gm, marcadores, 101
- Goldsmith, Mark, 512
- Golub, Todd, 568
- Goodnow, C., 287, 404
- gp130, 310
- Granulocitos, 37, 38f
- Granulomas, 81, 344
  - en hipersensibilidad tardía, 395, 395f
  - en infecciones bacterianas, 458
  - necrosantes, en el síndrome de linfocitos desnudos, 213, 213f
- Granzimas, 353, 357-358, 359, 360f
- Gripe, 451-454, 452f-454f, 452c
  - inmunización contra, 3, 478, 479c, 483-484
- Grub, David, 466
- Grupo de diferenciación (CD), 34. *Véase también en* CD
- Grupo sanguíneo, determinación, hemaglutinación en, 153-154
  - en trasplantes, 428
- Gusanos parásitos, 462-465, 465f

- H-2, complejo. *Véase* Complejo H-2
- H-2$^{d/k}$, transgénicos, en la maduración de células B, 277-278, 277f, 277c
- *H-2M*, 203
- *Haemophilus influenzae*, inmunización contra, 478, 479, 479c, 486
- HAMA, reacción, 393
- Haptenos, 77-78, 77f, 78c
- Harlan, David, 438
- Haurowitz, Felix, 6
- HBsAg, vacuna, 478, 479c, 485
- Hedrick, S.M., 224-225
- Helmintos, infestaciones por, 464-465, 465f
- Hemaglutinación, 153-154
- Hemaglutinina, en el virus de la gripe, 451-452, 451f, 454f
- Hematopoyesis, 23-30
  - apoptosis en, 26-28, 27f, 28f
  - citocinas en, 321-323, 324f
  - definición, 23
  - en la médula ósea, 24f, 42
  - genética, 24-26
  - procesos, 25f
  - regulación, 24-26
  - sitios, 24f
- Hemoglobinuria paroxística nocturna, 183
- Hemólisis, 168
- Hemostasia, apoptosis y, 26
  - hematopoyética, 26
- Hepatitis, cáncer hepático y, 527
  - inmunización contra, activa, 478, 479, 479c, 485
    - pasiva, 477-478, 478c

- Herpesvirus 8 del ser humano, inhibición de citocinas por, 314c
- Heterodímero Ig-α/Ig-β, 102, 103, 104f, 275
  - en la activación de células B, 279
- Hibridación, in situ, 558-559, 558f
  - sustractiva, 225-226, 225f
- Hibridomas, 105-106
  - formación, 550-551, 550f
- Hígado, en inflamación, 344
  - trasplante, 440f, 442. *Véase también* Trasplante
- Hiperlipidemia, proteína C reactiva en, 67
- Hipermutación somática, 125-127, 126f
  - definición, 125-127, 126f
  - desaminasa de citidina inducida por activación en, 128-129
  - en la diversidad de anticuerpos, 125-127, 126f
  - en la maduración de afinidad, 293-295, 294f
- Hipersensibilidad, citotóxica mediada por anticuerpo, 388-391. *Véase también* Reacciones de hipersensibilidad
  - reacciones. *Véase* Reacciones de hipersensibilidad
- Hipogammaglobulinemia, 504
  - adquirida, 504,
  - de Bruton, 284, 294f, 495c, 496f, 498
- Hiposensibilización, para hipersensibilidad, 386-388, 388f
- Histamina, 340
  - en reacciones de hipersensibilidad, 379-380, 380c
- Histiocitos, 36
- Histocompatibilidad, antígenos, 241
  - en aceptación de injerto, 428
- Hitchings, George, 434
- HLA, alelos, susceptibilidad a enfermedades y, 205-206
  - compatibilidad. *Véase* Compatibilidad de HLA
  - complejo, 190, 190f. *Véase también* Complejo mayor de histocompatibilidad (MHC)
- HLA-A-27, en enfermedad autoinmunitaria, 205, 414
- HLA-DM, 203, 215, 215f
- HLA-DO, 203, 215-216, 215f
- HLA-DR, 203, 215, 215f
  - susceptibilidad a enfermedades y, 205
- HLA-KIR, 364-365
- Hoffman, Jules, 62
- Hongos, estructura, 8f
- Honjo, Tasaku, 129
- Hood, Leroy, 115-116
- Hormona estimulante del tiroides, en la enfermedad de Graves, 409
- Hormonas sexuales, en enfermedad autoinmunitaria, 416-417
- Hozumi, N., 114
- HTLV-1 (virus de la leucemia [o linfotrópico] de células T del ser humano), 508-509, 527, 530

- *IA*, 202f, 203
- Ibritumomab, 141c
  - tiuxetan, para cáncer, 542c
- ICAM, 103, 104f, 328f, 329, 329c. *Véase también* Moléculas de adhesión celular (CAM)
- ICAM-1, 328f, 329, 329c, A-8
  - anticuerpo contra, en inmunosupresión
    - para trasplantes, 437
    - para inflamación, 347
  - en la extravasación de leucocitos, 333, 333f
  - en la extravasación de linfocitos, 337
  - en la muerte mediada por CTL, 356-357, 357f
  - en la superfamilia de las inmunoglobulinas, 103, 104f, 328f, 329
  - receptor de célula T y, 237c
- Ícaro, 26, 26c
- Idiotipos, 101
- Iditarod, carrera, 5
- *IE*, 202f, 203
- IgA, 99-100. *Véase también* Inmunoglobulina(s)
  - actividades biológicas, 96c, 99-100
  - cadenas pesadas y ligeras en, 87, 87c
  - deficiencia, 495, 495c, 499-500
  - dominios de región constante, 94
  - en leche materna, 99, 100
  - estructura, 87, 87c, 97f, 99, 99f
  - propiedades, 96c, 99-100
  - secretoria, 99-100, 99f
    - funciones, 99-100
  - sérica, 99
  - subclases, 96c, 99
    - alotipos, 101
- Ig-α/Ig-β, heterodímero. *Véase* Heterodímero Ig-α/Ig-β
- IgD. *Véase también* Inmunoglobulina(s)
  - actividades biológicas, 95-96, 96c, 100
  - cadenas pesadas y ligeras en, 87, 87c
  - dominios de región constante, 94
  - en el desarrollo de las células B, 273
  - estructura, 97f
  - expresión simultánea con IgM, 133
  - propiedades, 96c, 100
- IgE, 100. *Véase también* Inmunoglobulina(s)
  - actividades biológicas, 96c, 100
  - anticuerpo contra, para hipersensibilidad, 387
  - cadenas pesadas y ligeras en, 87, 87c
  - descubrimiento, 100
  - dominios de región constante, 94
  - en esquistosomosis, 464, 465f
  - en reacciones de hipersensibilidad, 18, 20, 100, 100f. *Véase también* Reacciones de hipersensibilidad, mediadas por IgE (tipo I)
  - estructura, 97f, 374-375
  - intervalos de referencia para, 374
  - producción, 315
  - propiedades, 96c, 100, 374-375
  - reacción P-K e, 100
  - unión a receptor de Fc, 373-373, 374, 376-377, 376f
- IgG, 95-96, 96c. *Véanse también* Inmunoglobulina(s); Reacciones de hipersensibilidad, citotóxicas mediadas por anticuerpo (tipo II)
  - actividades biológicas, 95, 96, 96c
  - cadenas pesadas y ligeras en, 87, 87c
  - como anticuerpo incompleto, 153
  - deficiencia, 500
  - dominios de región constante, 94
  - en la activación del complemento, 170-173, 172f
  - en reacciones de hipersensibilidad, 371, 372, 372f, 388-391
  - estructura, 85-86, 86f, 87c, 88f, 95, 97f
  - propiedades, 95-96, 96c
  - producción, 315
  - subclases, 95-96, 96c, 98f
    - alotipos, 101
- IgM. *Véase también* Inmunoglobulina(s)
  - actividades biológicas, 96-97, 96c
  - cadenas pesadas y ligeras en, 87, 87c
  - deficiencia, 500
  - dominios de región constante, 94
  - en el desarrollo de las células B, 273, 276-277
  - en la activación del complemento, 170-173, 171f, 172f
  - en reacciones de hipersensibilidad, 371, 372, 372f, 388-391. *Véase también* Reacciones de hipersensibilidad, citotóxicas mediadas por anticuerpo (tipo II)
  - estructura, 96, 97f, 170, 171f
  - expresión simultánea con IgD, 133
  - propiedades, 96-97, 96c
- *Ikaros*, 26, 26c
- IκB, 69, 70f
- Imurán (azatioprina), en trasplante, 434, 436f
- Incostatina M, 344, 344f
- Indinavir, para infección por VIH, 517c, 518
- Infartos miocárdicos, 403c
- Infección neonatal por VIH, prevención, 507
- Infección por citomegalovirus, inhibición por citocina en, 314c
  - inmunización pasiva para, 477-478, 478c
- Infección por el virus de Epstein-Barr, activación policlonal de células B en, 419
  - apoptosis en, 529
  - complemento en, 180c, 184-185, 185f
  - inhibición de citocinas en, 314, 314c
  - linfoma de Burkitt y, 527, 535
- Infección por el virus de la inmunodeficiencia humana, 504-521
  - activación de células B policlonales en, 419
  - anormalidades inmunitarias en, 514-516
  - avance, 512-515
  - carga vírica en, 512, 512f, 513c, 514-515
  - células T colaboradoras en, 318, 318f
  - células T CD4^{+} en, 512, 512f, 513c, 514-515, 515f
  - complicaciones neurológicas, 515
  - diagnóstico, 512, 512f
  - en el embarazo, 507
  - enfermedades indicativas de SIDA en, 512, 513c, 514-515
  - epidemia global, 505, 506f
  - epidemiología, 505, 506f
  - factores de riesgo, 506
  - fase aguda, 512-514, 512f
  - fase crónica, 512f, 514
  - genes KIR-MHC en, 364-365
  - infecciones, micóticas en, 467
    - oportunistas en, 512-515, 513c
  - mortalidad, 505, 505f
  - panorama general, 505
  - prevención, 506-508, 518-520
  - proceso infeccioso en, 511f
  - propagación, 505-506

- Infección por el virus de la inmunodeficiencia humana (*cont.*)
  - sarcoma de Kaposi e, 527
  - sincicios en, 512
  - transmisión de madre a hijo, 507
  - tratamiento, 515-518, 517c
    - en el embarazo, 507
    - inhibidores de inversotranscriptasa en, 517c, 518
    - inhibidores de la fusión en, 517c, 518
    - inhibidores de proteasa en, 517c, 518
    - interleucina 2 en, 321
    - terapia antirretrovírica altamente activa en, 518
  - vacuna para, 518-520
- Infección por VIH. *Véase* Infección por el virus de la inmunodeficiencia humana
- Infecciones bacterianas, 455-460
  - complemento en, 181-182, 181f, 182c, 455, 456f, 457c
  - difteria, 4c, 458
  - en bioterrorismo, 468-469
  - etapas, 455, 456f
  - formación de granuloma en, 458
  - hipersensibilidad tardía en, 393-396, 393c
  - inmunización contra. *Véase* Vacunas/vacunación
  - inmunorreacción en, 455-460
    - efectos negativos, 457-458
  - mortalidad por, 448f
  - sobreproducción de citocinas en, 318, 457
  - surgimiento/resurgimiento, 467, 467f, 470
  - tuberculosis, 218, 393, 395, 458-460. *Véase también* Tuberculosis
- Infecciones micobacterianas. *Véase también* Tuberculosis
  - en defectos del receptor de interferón γ, 495c, 498
  - inmunorreacción en, 458-460, 459f
  - presentación de antígeno en, 218
- Infecciones micóticas, 7, 465-467, 466c
  - hipersensibilidad tardía en, 393-396, 393c
  - mortalidad por, 448f
- Infecciones oportunistas. *Véase también* Enfermedades infecciosas
  - en infección por VIH, 512-515, 513c
- Infecciones parasitarias, 460-465
  - esquistosomosis, 462-465, 465f
  - estructura del parásito e, 8f
  - hipersensibilidad tardía en, 393-396, 393c
  - inmunorreacción en, 460-465
  - leishmaniosis, 462
  - mortalidad por, 448f
  - paludismo, 460-461, 460f
  - por helmintos, 462-465, 465f
  - por protozoarios, 460-462
  - tripanosomosis, 462, 463f
- Infecciones víricas, 447, 448-454
  - complejo mayor de histocompatibilidad en, 204
  - complemento en, 180c, 184-185, 185f
  - ensayos de inhibición de la hemaglutinación para, 154
  - gripe, 451-454
  - hipersensibilidad tardía en, 393-396, 393c
  - inhibición de citocina en, 314, 314c
  - inmunización contra. *Véase* Vacunas/vacunación
  - inmunorreacción en, 447-454
    - humoral, 449-450, 449c
    - mediada por células, 449c, 450
  - mortalidad por, 448f
  - surgimiento, 467, 467f, 470-471
  - VIH. *Véase* Infección por el virus de la inmunodeficiencia humana
- Inflamación crónica, 344-346, 345f, 346f. *Véase también* Reacción inflamatoria
  - antiinflamatorios para, 346-348, 347f, 348f
- Infliximab, 141c
- Influenza. *Véase* Gripe
- Ingeniería genética, 136-141. *Véase también* Tecnología de DNA recombinante
  - de inmunoglobulinas de reemplazo, 502-503
  - en el desarrollo de vacunas, 483
- Inhibición, de la aglutinación, 154
  - retroinhibición, 298
- Inhibidor(es), de ciclooxigenasa, 347-348, 348f
  - de la fusión, para infecciones por VIH, 517c, 518
  - de membrana de lisis reactiva, 177c, 179-180, 183
- Injerto(s). *Véase también* Trasplante
  - aceptación, 427f, 428
  - aloinjerto, 33, 426-440
    - aceptación, 427f, 428
    - células T y, 241-242
    - histocompatibilidad, 428
    - rechazo, 426-434. *Véase también* Rechazo de injerto
    - tolerancia a, 439-440
  - autoinjertos, 426
  - isoinjerto, 426
  - rechazo. *Véase* Rechazo de injerto
  - xenoinjertos, 426
    - usos potenciales, 435, 443-444
- Inmunidad activa, 5, 477c, 478-480. *Véase también* Vacunas/vacunación
- Inmunidad adquirida. *Véase* Inmunidad adaptativa
- Inmunidad adaptativa, 9-18, 52, 53c
  - célula B y sus receptores en, 14-16
  - células presentadoras de antígeno en, 13f, 14
  - definición, 1
  - especificidad antigénica, 10-12, 10c, 15f-17f, 16-17
  - inmunidad innata y, 9-10, 10c, 55-57
  - inmunodeficiencias que afectan, 493-500, 494f
  - linfocitos en, 12-14, 12f, 13f
  - memoria inmunitaria en, 1, 9, 10, 12, 17, 18, 18f, 426, 481
  - moléculas MHC en, 16, 16f
  - reacción primaria en, 9, 10c, 17
  - reacción secundaria en, 9, 10c, 17
  - reconocimiento de lo propio y lo extraño en, 12, 17
  - selección clonal en, 7, 16-18, 17f
- Inmunidad, colectiva, 480
  - definición, 2
  - desafíos teóricos en, 5-7
  - estudios pioneros, 4-5, 5c
- Inmunidad innata, 8-10, 52-72, 447
  - barreras fisiológicas en, 8-9
  - como primera línea de defensa, 9
  - componentes, 8-9
  - definición, 1, 8
  - discriminación entre los propio y lo extraño en, 53c
  - diversidad, 53c
  - efectores, 56f, 57
  - en infecciones micóticas, 466
  - en infecciones víricas, 449-450, 449c
  - en organismos distintos de los vertebrados, 71, 71f, 72c
  - en plantas, 71, 71f, 72c
  - en vertebrados, 71, 71f, 72c
  - especificidad, 10c, 53c
  - evolución, 48f, 49, 52
  - factores solubles en, 9, 55-57, 59-62
  - fagocitosis en, 9, 58f
  - flora normal y, 447
  - inflamación en, 57-59
  - inmunidad adaptativa y, 9-10, 10c, 55-57
  - inmunodeficiencias que afectan, 493-495, 494f, 500-502
  - microorganismos comensales y, 447
  - péptidos antimicrobianos en, 59-61, 61c
  - reacción de fase aguda en, 61
  - receptores tipo Toll en, 9, 61-65, 62c, 63f, 64f
  - reconocimiento de patrones en, 9, 61-65
  - señalización en, 69-71
  - tiempo de reacción en, 9, 10c, 53c
  - tipos celulares en, 53c, 65-69, 65f
  - ubicuidad, 71
- Inmunidad pasiva, 5, 95, 98
  - adquisición, 477-478, 477c, 478c
- Inmunidad, perspectiva histórica, 2-5
- Inmunización, activa. *Véase* Vacunas/vacunación
  - pasiva, 5, 95, 98, 477-478, 477c, 478c
- Inmunocompetencia, 40
- Inmunocomplejo(s), depuración, 169, 180c, 185, 186f, 391
  - en enfermedad autoinmunitaria, 393
  - en enfermedad del suero, 392-393, 392f
  - en enfermedades infecciosas, 393
  - en hipersensibilidad, 391-393
  - en reacciones de Arthus, 392, 392f
  - en reacciones medicamentosas, 393
  - enfermedades por, 502
  - hipersensibilidad mediada por (tipo III), 372, 372f, 391-393. *Véase también* Reacciones de hipersensibilidad
- Inmunodeficiencia combinada grave (SCID), 19, 29-30, 30c, 310, 494f, 495f, 496-498, 496f, 497f, 504
  - ligada al sexo, 19, 310, 494f, 495c, 496-498, 496f, 497f
  - ratón con, 504
  - tratamiento, 503
- Inmunodeficiencia, 19. *Véanse también* Trastornos específicos
  - de células B, 495-496
  - de células T, 494f
  - de la inmunidad adaptativa, 493-500, 494f
  - de la inmunidad innata, 493-495, 494f, 500-502
  - deficiencia de complemento y, 185-186, 186f, 502
  - disfunción tímica y, 500
  - factores genéticos en, 495c
  - inducida por agentes, 504-505
  - inmunización pasiva para, 477-478, 477c, 478c
  - ligada al sexo, 496f
  - linfoide, 493-500

  localización de defectos en, 494f
  mieloide, 500-502
  modelos animales, 503-504
  panorama general, 493
  primaria, 493-504
    factores genéticos en, 493-495
  secundaria, 504-520. *Véase también* Infección por el virus de la inmunodeficiencia humana
  selectiva, 19, 495, 495c, 499-500
  tratamiento, 502-503
  variable común, 494f, 499
Inmunodepuración, 169
  complemento en, 180c, 185, 186f, 391
Inmunodifusión, doble, 151-152, 152c
  radial, 151, 152c
Inmunoelectroforesis, 152-153, 152c, 153f
Inmunoensayos, 145. *Véase también* Sistemas experimentales
  aglutinación, 153-154, 153f
  citometría de flujo, 161-162, 162f
  doble inmunodifusión, 151-152, 152c
  electroforesis en cohete, 152-153, 152c
  ensayo de inmunosorbente ligado a enzima (ELISA), 155-158, 305, 305f
  inmunodifusión radial, 151-152, 152c
  inmunoelectroforesis, 152-153, 152c, 153f
  inmunofluorescencia, 160-161, 161f
  inmunoprecipitación, 158-159, 160f
  método de Mancini, 151-152, 152c
  método de Ouchterlony, 151-152, 152c
  radioinmunoensayos, 154-155, 156f
  reacciones de precipitación, 151-153, 152c
  sensibilidad, 151, 152c
  Western blotting, 158
Inmunofenotipificación de la leucemia, 163
Inmunofluorescencia, 160-161, 161f. *Véase también* Sistemas experimentales
  avances en, 571
Inmunogenicidad, alteridad e, 78-79
  coadyuvantes e, 81
  composición y heterogeneidad químicas e, 79, 79f
  definición, 77
  dosis y vía de administración del inmunógeno en, 80-81
  genotipo del receptor e, 80
  procesamiento y presentación de antígeno e, 80
  tamaño molecular e, 79
  y antigenicidad, 77-81
Inmunógeno(s), 77. *Véase también* Antígeno(s)
  características, 78-80, 79f
  haptenos como, 77-78, 78c
  inmunogenicidad, 78-80, 79f
  refuerzo, 80
  y tolerógenos, 403
Inmunoglobulina(s). *Véase también* Anticuerpos *e inmunoglobulinas específicas, p. ej.* IgA
  actividades biológicas, 95-100
  alotipos, 101, 101f
  cadenas ligeras. *Véase* Cadenas ligeras (L)
  cadenas pesadas. *Véase* Cadenas pesadas (H)
  clases, 87, 87c, 95-100
  deficiencias selectivas, 495, 499-500. *Véase también* Inmunodeficiencia
  definición, 4, 76
  descubrimiento, 4, 84-85
  dominios múltiples, 87-89, 88f, 89f
  en la infección por VIH, 516c
  ensamblaje, 133, 134f
  epítopos en, 100-102
  estructura, 84-89
    primaria, 79f, 87
    secundaria, 79f, 87, 88f
    terciaria, 79f, 87, 105. *Véase también* Inmunoglobulina(s), pliegue
    cuaternaria, 79f, 87, 88f
  genes. *Véase* Genes de inmunoglobulina
  idiotipos, 101-102, 101f
  inmunización pasiva con, 5, 95, 98, 477-478, 477c
  intravenosa, 98
    para inmunodeficiencias, 502
  isotipos, 101, 101f
  pliegue, 88f, 90f, 89-90, 105
  recombinante, 502-503
    para inmunodeficiencias, 502-503
  reemplazo, 502
  regiones constantes. *Véase* Región constante (C)
  regiones determinantes de complementariedad, 85, 90-93, 91f, 92f
  regiones variables. *Véase* Región variable (V)
  secretadas (sIg), 94, 130-133, 131f, 134f
  síntesis, 133, 134f
  superfamilia. *Véase* Superfamilia de inmunoglobulinas
  unida a membrana (mIg), 94, 130-132, 131f, 132f
  y anticuerpos, 4
Inmunoprecipitación, 158-159, 160f
Inmunorreacción, a tumores, 537-538
  de memoria, 1, 10, 12, 17, 18, 18f. *Véanse también* Células B de memoria; Células T de memoria
    en el rechazo de injerto, 426
    en inmunización, 481
  defensas de los patógenos contra, 447
  diferencias de género en, 415, 416-417
Inmunorreacción efectora, 1
  células asesinas naturales en, 35-36, 68, 351, 360-363
  células B en. *Véase* Células B efectoras
  células NKT en, 364-365
  células T en. *Véase* Células T efectoras
  citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo en, 35, 95, 98, 366, 366f
  competencia antigénica en, 297, 298c
  en el rechazo de injerto, 431-432, 433f
  inhibición mediada por anticuerpo, 297-298
  regulación, 297-298
  señalización en, 352-353
  valoración experimental, 366-368
Inmunorreacción, eficacia, 10
  en cáncer, 537-538
  en el embarazo, 417
  en enfermedades infecciosas, 447-472
    bacterianas, 455-460
    micóticas, 465-467
    parasitarias, 460-465
    surgimiento/resurgimiento, 467-471
    víricas, 447-454, 449c
  etapas, 15f
Inmunorreacción humoral, 14, 15f, 18, 18f, 76, 289-297. *Véase también* Célula(s) B
  e inmunidad mediada por células, 351
  efecto de portador en, 291
  en hipersensibilidad, 372-373. *Véase también* Reacciones de hipersensibilidad
  en infecciones víricas, 448-451, 449c
  estudios de transferencia celular, 290-291, 290c, 291f
  estudios pioneros, 4-6, 5c
  expansión clonal en, 18, 18f
  primaria, 10c, 17, 18f, 262, 289-290, 290c
  procesos mediados por complemento en, 180-185, 180c
  reconocimiento asociativo (ligado) en, 290-291, 290c, 291f
  secundaria, 10c, 17, 18f, 262, 289-290, 290c
  sitios de inducción in vivo, 292
Inmunorreacción mediada por células, 14, 15f, 351-368. *Véanse también* Célula(s) T Inmunorreacción
  células asesinas naturales en, 35-36, 68, 351, 360-363
  citotóxica, 1, 14, 15f
    células NKT en, 364-365
    citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo en, 35, 95, 98, 366, 366f
    eficacia, 10
    en la enfermedad de injerto contra huésped, 367-368
    en la linfólisis mediada por células, 367, 368f
    en la reacción linfocítica mixta, 366-367, 367f
    estudios pioneros con, 4-6, 5c
    evaluación experimental, 366-368
    expansión clonal en, 18
    linfocitos T citotóxicos en, 352-359
    regulación, 297-298
    señalización en, 352-353
  en infecciones víricas, 448-451, 449c, 450
  estudios pioneros, 4-6, 5c
  expansión clonal en, 18
  inmunidad humoral y, 351
  mecanismos ucitotóxicos en, 351-368. *Véase también* Inmunorreacción mediada por células
  reacciones citotóxicas en, 351-368. *Véase también* Reacción efectora
Inmunorreacción, primaria, 10c, 17, 262, 289-290, 290c
  regulación, 297-298
  secundaria, 10c, 17, 262, 289-290, 290c
Inmunosinapsis, en la activación de células B, 287
  en la activación de células T, 257
Inmunosupresión, inducida por virus, 451
  tratamiento. *Véase* Tratamiento inmunosupresor
Inmunoterapia, anticuerpos monoclonales en. *Véase* Anticuerpos monoclonales
  para hipersensibilidad, 386-388, 388f
  pasiva, 5, 95, 98, 477-478, 477c

Inmunotoxinas, para cáncer, 542-543
Insectos, reacción de Arthus en mordeduras y picaduras, 392
Integrinas, 59, 328, 328f. *Véase también* Moléculas de adhesión celular (CAM)
    β2, 328
    CD18, 328
    en deficiencia de adhesión leucocítica, 501, 502c
    en extravasación de leucocitos, 332-334, 332f, 333f
    en extravasación de linfocitos, 336
Intensificadores, 133, 134, 135f, 136
Interacciones antígeno-anticuerpo, 145-164
    afinidad en, 145-150, 148, 148f. *Véase también* Afinidad de anticuerpo
    alternativas a, 162-164
    áreas de contacto en, 91-92, 91f, 92f
    avidez en, 148-149
    definición, 145
    en citometría de flujo, 161-162
    en ELISA, 155-158
    en inmunofluorescencia, 160-161
    en inmunoprecipitación, 158-159
    en la activación del complemento, 170-173, 172f
    en radioinmunoensayos, 154-155
    en reacciones de aglutinación, 153-154, 153f
    en reacciones de precipitación, 151-153
    en tinción fluorescente, 160-162
    en Western blotting, 158
    epítopos en, 81-84
    formación de retículos en, 151
    hidrófobas, 145, 146f
    interacciones no covalentes en, 145, 146f
    panorama general, 145
    potencia, 145-149
    rapidez, 149-150, 150f
    reactividad cruzada en, 77, 149. *Véase también* Reactividad cruzada
    regiones determinantes de complementariedad en, 85, 90-93, 91f, 92f
    resonancia de plasmones superficiales y, 149-150, 150f, 151f
Interferón(es), 9, 59, 307c, A-29, A-30
    en infecciones víricas, 449, 449c, 450, 450f
    en la regulación del MHC, 204
    receptores, 308, 308f, 309. *Véase también* Receptores de citocina
        en señalización, 312-314, 313f, 313c
    usos terapéuticos, 322-323
        en cáncer, 540-541
Interferón α, A-29
    en infecciones víricas, 449, 449c, 450, 450f
    fuentes, 307c
    funciones, 307c
    usos terapéuticos, 322-323
        en cáncer, 540, 541
Interferón β, A-29
    en infecciones víricas, 449, 449c, 450, 450f
    usos terapéuticos, 322-323
        en cáncer, 540, 541
Interferón γ, 68, 307c, A-30
    anticuerpo contra, en inmunosupresión para trasplantes, 437
    defecto del receptor, 495c, 498
    en activación por macrófagos, 344-345, 345f
    en autoinmunidad, 418-419, 419f
    en el desarrollo de las células T colaboradoras, 316
    en hipersensibilidad, mediada por IgE, 384-385
        tardía, 396, 396f
    en infecciones víricas, 449c, 450
    en inflamación crónica, 344-345, 345f
    en leishmaniosis, 462
    en rechazo de injerto, 432
    familia de receptores, 309
    fuentes, 307c
    funciones, 307c, 312, 315
    producción por células asesinas naturales, 360-361
    unión a receptor, 313, 313f
    usos terapéuticos, 322-323
        en cáncer, 540, 541
Interferón λ, A-30
Interleucina(s), 302, A-27, A-29. *Véase también* Citocina(s)
    en esquistosomosis, 464
    en hipersensibilidad, 384
        mediada por IgE, 380, 380c
        tardía, 396
    en inflamación, 339-342, 339t, 341-343f
    en la activación de células B, 287
    en la activación de células T, 262
    en rechazo de injerto, 432-433, 432f
    en señalización, 313, 313c
    estructura, 305-306, 305f
    fuentes, 307c
    funciones, 307c
    para cáncer, 540-541
    receptores, en señalización, 313, 313c. *Véase también* Receptores de citocina
Interleucina 1, 68, A-27
    en choque séptico, 319
    en inflamación, 339-340, 339c
        en la reacción local, 341, 341f
        en la reacción sistémica, 342f, 344
    fuentes, 307c
    funciones, 307c
    receptor, 308, 308f
    virus de Epstein-Barr y, 314
Interleucina 2, 307c, A-27
    anticuerpo contra, en inmunosupresión para trasplantes, 437
    en la activación de células T citotóxicas, 354, 354f
    en rechazo de injerto, 432-433, 432f
    estructura, 305-306, 305f
    fuentes, 307c
    funciones, 307c
    receptor, 308-309, 308f, 310-312, 311f. *Véase también* Receptores de citocina
        afinidad de unión, 311-312, 311f
        antagonista, 314
        en enfermedad de Chagas, 320
        estructura, 310, 311, 311f
        expresión, 312
        formas, 311-312, 311f
        subfamilia, 309f, 310-311
    recombinante, para SIDA, 321
Interleucina 3, 309-310, A-27
    en hematopoyesis, 321-323, 321c, 324f
    receptor, 309-310, 309f, 310f
Interleucina 4, 307c, A-27
    en el desarrollo de las células T colaboradoras, 316, 316f
    en hipersensibilidad, 384
    estructura, 305-306, 305f
    fuentes, 307c
    funciones, 307c, 315
    receptor, 309f, 310
Interleucina 5, 307c, 309-310, A-27
    en hematopoyesis, 321-323, 321c, 324f
    fuentes, 307c
    funciones, 307c, 310
    receptor, 309-310, 309f, 310f
Interleucina 6, 68, 307c, 309f, 310, A-27
    en cáncer, 319-320
    en hematopoyesis, 321-323, 321c, 324f
    en inflamación, 339-340, 339c
        en la reacción local, 341, 341f
        en la reacción sistémica, 342f, 344
    fuentes, 307c
    funciones, 307c
    subfamilia de receptores, 309f, 310
Interleucina 7, A-27
    en hematopoyesis, 321-323, 321c, 324f
    en la maduración de las células B, 273
    receptor, 309f, 310
Interleucina 8, A-27
    en la extravasación de leucocitos, 333
Interleucina 9, A-27
    receptor, 309f, 310
Interleucina 10, 309, A-28
    en la regulación cruzada de células T colaboradoras, 317-318
    funciones, 315
    vírica, 314
Interleucina 11, 309f, 310, A-28
    en hematopoyesis, 321-323, 321c, 324f
Interleucina 12, 307c, A-28
    en el desarrollo de las células T colaboradoras, 316, 316f
    en la tuberculosis, 459
    fuentes, 307c, 315, 316
    funciones, 307c, 315
Interleucina 13, A-28
Interleucina 14, A-28
Interleucina 15, A-28
    receptor, 309f, 310
Interleucina 16, A-28
Interleucina 17, A-28
    en hipersensibilidad tardía, 396
Interleucina 18, A-28, 308
    en el desarrollo de las células T colaboradoras, 316, 316f
Interleucina 19, A-28
Interleucina 20, A-28
Interleucina 21, A-28
    receptor, 309f, 310
Interleucina 22, A-28
Interleucina 23, A-29
    en el desarrollo de las células T colaboradoras, 316, 316f
Interleucina 24, A-29
Interleucina 25, A-29
Interleucina 26, A-29
Interleucina 27, A-29
Interleucina 27, en el desarrollo de las células T colaboradoras, 316, 316f
    receptor, 309

Interleucina 28, A-29
Interleucina 29, A-29
Interleucina 30, A-29
Interleucina 31, A-29
Interleucina 32, A-29
Inversotranscriptasa, 508
  inhibidores, para infección por VIH, 517c, 518
Investigación inmunológica, premios Nobel por, 4, 5c
  primeros descubrimientos en, 4-5, 5c
Iones calcio, en hipersensibilidad, 378-379
  en la activación de células T, 257f, 258
  en la desgranulación de mastocitos, 378-379
IPEX (síndrome ligado al sexo de desregulación inmunitaria, poliendocrinopatía y enteropatía), 407
Ishida, Isao, 137
Ishizaka, K., 100, 374
Ishizaka, T., 100, 374
Islotes de Langerhans, en la diabetes, 409, 409f
Isohemaglutininas, 389
Isoinjertos, 426. *Véase también* Trasplante
Isotipo, cambio. *Véase* Cambio de clase
ITAM. *Véase* Motivo activador de inmunorreceptor basado en tirosina (ITAM)
ITIM (motivo inhibidor de inmunorreceptor basado en [fosfato de] tirosina), 283f, 284
  células asesinas naturales y, 362
Itk, 284

J, cadena de unión. *Véase* Cadena de unión (J)
JAK-STAT, vía de señalización, 313-314, 313c, 316-317
Janeway, Charles, 63
Janus, cinasas. *Véase* Cinasas Janus
Jenkins, M. K., 406
Jenner, Edward, 2, 475
Johansson, S.G.O., 374
jun, en cáncer, 528

Kabat, Elvin A., 84
Kappler, J., 224
K_d (constante de disociación), 146-147, 146c
KIR, receptores, 363, 363
Kirk, Allan, 438
KIR-MHC, genes, en enfermedad, 362, 363
Kitasato, Shibasaburo, 4, 98
Knock-in, tecnología, 565
Koch, Robert, 393
Köhler, Georges, 87, 105-106
K-*ras*, oncogén, 528c, 530
Kustner, H., 100, 374

Lámina plegada beta, 87
Lámina propia, 47
Lamivudina, para infección por VIH, 517c, 518
Lander, Eric, 568
Landsteiner, Karl, 6, 19, 77
Lanier, L., 235
LAT, 281
Lectina de unión a manosa, 55, 56, 61, 62c
  deficiencia, 186, 502
  en la activación del complemento, 175
  en la reacción inflamatoria, 175
Lectinas tipo C, en la activación de células asesinas naturales, 362
Leche materna, IgA en, 99, 100
Leishmaniosis, 462
Lemaitre, Bruno, 62
Lenschow, D.J., 438
Leporipoxvirus, inhibición de citocina por, 314c
Lepra, células T colaboradoras en, 318, 318f
  tuberculoide, células T colaboradoras y, 318, 318c
Leucemia, 525. *Véase también* Cáncer
  aguda, 530-531
    diagnóstico mediante microarreglos, 568-569
  anticuerpos monoclonales para, 542-543, 542f
  citometría de flujo en, 163
  clasificación, 163
  crónica, 530-531
  de células T del adulto, 509, 527, 530
  factor inhibidor, 309f, 310, 344, 344f, A-30
  inmunofenotipificación, 163
  interferones para, 322-323
  receptor de factor inhibidor, 309f, 310
  reordenamientos de células T como marcadores, 232-233
  transposiciones cromosómicas en, 529f
  trasplante de médula ósea para, 441-442
Leucemia/linfoma de células T del adulto, 509, 527, 530. *Véanse también* Cáncer; Leucemia
Leucocito(s), 23
  activación, 332, 332f
  adhesión, 327-329, 340-343, 341f, 343
    defectuosa, 328, 343, 494f, 495c, 501-502, 502c
  citometría de flujo, 161-162, 161f
    en leucemia, 163
  extravasación, 38, 57, 58f, 59, 60f, 327-329, 329c, 331-334, 332f, 333f, 340-342, 340f, 341f
    antiinflamatorios y, 346-348, 347f, 348f
    moléculas de adhesión celular en, 327, 328-329, 329c, 332, 332f, 333, 333f, 334
    monocitos en, 333-334, 333f
    neutrófilos en, 332-333, 332f, 333f, 340-341, 341f
  formación. *Véase* Hematopoyesis
  migración, 327-329, 343
  quimiocinas y, 329-332, 330c, 331f. *Véase también* Quimiocinas
  rodamiento, 329c, 332, 332f
Leucocitosis, 38
Leucosis aviar, virus, 530
Leucotrienos, como broncoconstrictores, 380
  en hipersensibilidad, 378f, 379, 380, 380c
  en inflamación, 339, 339f
  ensayo, 80
Levadura, cromosomas artificiales, 557f, 558, 558c
LFA-1, 237c
  anticuerpos contra, en inmunosupresión
    para trasplantes, 437
    para inflamación, 347
  en inmunosupresión para trasplantes, 437
  en la deficiencia de adhesión leucocítica, 501, 502c
  en la muerte mediada por CTL, 356-357
  en la reacción efectora, 352
LFA-2, 237c, 238
LFA-3, 103, 104f
Ligando Flt-3, 321-323, 321c, 324f
Ligando Notch, en el desarrollo de las células T, 246
Líneas celulares, 547-551, 549c
  definición, 549
  linfoides, clonadas, 549-550, 549c
    híbridas, 549c, 550
    primarias, 547-549, 549c
  transformación en, 549
Líneas germinales, 562
Linfa, 42, 44
  circulación, 42, 43f
Linfáticos. *Véase* Ganglios linfáticos
Linfoblastos, 30, 31f
Linfocinas, 302
Linfocito(s), 6
Linfocitos autorreactivos, 276-278
  activación, 415-419. *Véase también* Autoinmunidad
  eliminación, 401-407. *Véase también* Tolerancia
  en la tolerancia central, 403-404
  en la tolerancia periférica, 404-406
  selección negativa, 287-289, 287f, 288f, 415f
Linfocito(s), B. *Véase* Celula(s) B
  definición, 12
  direccionamiento (tráfico), 336
  en la linfa, 44
  en los ganglios linfáticos, 44, 45f
  especificidad antigénica, 15f, 16
  expresión de genes MHC en, 203-205
  extravasación, 334-338, 335f-337f
  intraepidérmicos, 49
  intraepiteliales, 47
  pequeños, 30, 31f
  receptores antigénicos. *Véase* Anticuerpos
  recirculación, 334, 334f, 336
  T. *Véase* Célula(s) T
Linfocito(s) T citotóxico(s) (CTL), 14, 35, 351, 352-359. *Véase también* Célula(s) T, efectoras
  activación, 352-353
  antígenos tumorales y, 533-534
  CD8$^+$, 35, 355, 356f
    en la presentación de antígeno, 209-212, 210f-212f, 216f
  en cáncer, 533-534, 538, 539-540, 539f, 540f
  en el rechazo de injerto, 431-433
  en infecciones víricas, 450
  mecanismos citotóxicos, 355-359
    apoptosis, 355, 358-359, 359f. *Véase también* Apoptosis
    formación de conjugados, 356-357, 356f, 357f
    formación de poros, 357-358, 358f
  moléculas efectoras expresadas por, 353, 353c
  precursores, activación, 353-354, 354f
  producción, 353-354, 354f
  y células asesinas naturales, 361-362
Linfocito(s) vírgenes, 30
  B, 18, 30, 271, 279, 336
  T, 30, 262, 262f

Linfochip, 568, 570
Linfólisis mediada por células, 367, 368f, 538
Linfoma, 525, 530. *Véase también* Cáncer
  análisis de microarreglos en, 568-569
  anticuerpos monoclonales para, 140-141, 141c, 542-543, 542f, 543f
  de Burkitt, 527, 529, 529f, 531, 531f, 535
    infección por el virus de Epstein-Barr y, 527, 535
  difuso de células B grandes, 568-569. *Véase también* Linfoma
    diagnóstico, análisis de microarreglos en, 568-569
  en ratones transgénicos, 530
  interferón para, 322-323
  no Hodgkin, 530
    anticuerpos monoclonales para, 140-141, 141c
  reordenamientos de células T como marcadores, 232-233
  transposiciones cromosómicas en, 531, 531c
Lipido(s), en inflamación, 339, 339f
  inmunogenicidad, 79-80
Lipopolisacárido, en la activación de células B, 278
  receptor, 62, 62c, 63f
  resistencia a, 63, 63f
Líquido intersticial, 42
Lisis celular, en el complejo de ataque a membrana, 180-182
  mediada por complemento, 169, 169f, 179-180
Lisogenia, 458
Lisosomas, 37, 37f
Lisozima(s), 9
  de clara de huevo de gallina (HEL), epítopo no secuencial en, 82-83, 83f
    tolerancia y, 404-406
Listeria monocytogenes, evasión de las defensas del huésped por, 457
Loci menores de histocompatibilidad, en trasplante, 431
Loeffler, Friedrich, 458
LTB4, 339, 339f
LTC4, 339, 339f
LTD4, 339, 339f
LTE4, 339, 339f
Luciferasa, ensayos, 562
Lupus eritematoso sistémico, 403c, 410-411, 411f
  complemento en, 185, 186
  en mujeres, 416-417
  modelos animales, 412, 412c
  tratamiento, 419-422
Lycopersicon esculentum, inmunidad innata en, 71, 71f
Lyn, en la activación de células B, 280f, 281, 282f

M, antígenos, 149
Mac-1, 329c
*M*α, 203
Macrófago(s), 65f, 66-68, 263-264, 263c. *Véase también* Células presentadoras de antígeno (APC)
  activación, 36
    por interferón γ, 344-345, 345f
  actividad antitumoral, 538. *Véase también* Factor α de necrosis tumoral (TNF-α)
  alveolares, 36
  en hipersensibilidad tardía, 395-396
  en inflamación, 340-341, 341f
  en la activación de células T, 263c, 264
  en la fagocitosis, 9, 36-37, 37f, 58f, 59. *Véase también* Fagocitosis
  estructura, 36f
  factor estimulante de colonias, 321-323, 321c, 324f, 344, A-30
    factor inhibidor, A-30
    formación, 25f
    intestinales, 36
    presentación de antígeno por, 209
    producción de citocinas por, 306
    proteína inflamatoria 1β, 333
    reclutamiento, 58f
MAdCAM-1, 328f, 329, 337
Maduración de afinidad, 126, 271, 293-296, 294f
  cambio de clase en, 294f, 296
  en centros germinales, 292-293, 294f
  hipermutación somática en, 293-295, 294f
Magaininas, 59-61, 61c
MAGE-1/2, 537
MALT (tejido linfoide relacionado con mucosas), 43, 46, 47f
Marcado con anticuerpos, 164, 164f, 551
Marrack, P., 224
Mastocitos, 38
  desgranulación, en hipersensibilidad, 340, 373, 377-379, 388
    en inflamación, 340
  estructura, 375, 375f
  función, 375-376
*M*β, 203
MBL, vía, 171f, 175
McDevitt, H., 206
Mediadores enzimáticos plasmáticos inflamatorios, 338, 338f
Médula ósea, desarrollo de células B en, 42, 272-273, 273f, 274f
  pretratamiento en, 437
  trasplante, 33, 440f, 441-442. *Véase también* Trasplante
    para inmunodeficiencias, 503
Medzhitov, Ruslan, 63
Meister, Joseph, 3
Melanoma, antígenos de trasplante relacionados con tumor en, 537
  genes KIR-MHC en, 364-365
  maligno, antígenos de trasplante relacionados con tumor en, 537
    genes KIR-MHC en, 364-365
Membranas mucosas, 53-54, 54f
Memoria inmunitaria, 1, 10, 12, 17, 18, 18f
  en el rechazo de injerto, 426
  en la inmunización, 481
  selección clonal y, 17
Meningitis, inmunización contra, 485
Merozoítos, en paludismo, 460, 460f
Metástasis, 525, 526f. *Véase también* Cáncer
Metchnikoff, Elie, 5, 6, 6f, 59
Metilcolantreno, cánceres inducidos por, 532-535
Metilprednisolona, para hipersensibilidad, 388, 388c
  para inflamación, 347
Método de Mancini, 151-152, 152c
Método de Ouchterlony, 151-152, 152c
Metotrexato, en inmunosupresión, 434
MHC. *Véase* Complejo mayor de histocompatibilidad (MHC)
Miastenia grave, 403c, 409-410, 410f, 414
  autoinmunitaria experimental, 413, 413c
  timectomía para, 420
  tratamiento, 419-422
MIC, genes, 202
MIC-A/B, células asesinas naturales y, 362-363
Micofenolato, en inmunosupresión, 434
Micosis. *Véase* Infecciones micóticas
Microambiente inductor hematopoyético (HIM), 24
Microglobulina β_2, en la superfamilia de las inmunoglobulinas, 103, 104f
  moléculas MHC clase I y, 193-195, 194f, 195f
Microorganismos comensales, 447
Microscopia, bifotónica, 570-571
  confocal, 570-571
  de fluorescencia, 160-161, 161f, 570-571
  electrónica, 164, 164f
  inmunoelectrónica, 164, 164f
Microtoxicidad, prueba, 429-430, 429f
Mieloma, 86
  células, 86, 550f, 551
  citocinas en, 319
  proteína, 86
Milstein, Cesar, 87, 105-106, 126-127, 136
Mimetismo molecular, de receptores de citocina, 314, 314c
  en la autoinmunidad, 417-418, 418c
Mimetismo vírico, de receptores de citocina, 314, 314c
  en autoinmunidad, 417-418, 418c
Mitchison, Avrion, 426
Mitógenos, en la activación de células B, 278
Modelo(s), animales, 546-547, 563-564, 564f, 564c. *Véase también* Ratones
  de artritis autoinmunitaria, 412c, 413
  de doble receptor, para el receptor de célula T, 224
  de dos genes de Dreyer-Bennett, 113, 114, 115
  de dos genes-un polipéptido, del gen de inmunoglobulina, 113-114, 115
  de dos receptores para las células asesinas naturales, 362
  de huecos en el repertorio, 206
  de identidad alterada, para el receptor de célula T, 224
  de línea germinal para genes de inmunoglobulina, 113, 123
  de selección de determinantes, 206
  de señales opuestas, 362-363, 363f
  de señalización diferencial, de la selección tímica, 252-253
  de variación somática para el gen de inmunoglobulina, 113, 123
  estocástico de selección tímica, 253, 254f
  instructivo de selección tímica, 253, 254f
Modulación antigénica, 538
Molécula 1 de adhesión de células endoteliales y plaquetas (PECAM-1), 329
  en la extravasación de linfocitos, 336
  en la extravasación de leucocitos, 332, 334

- Moléculas de adhesión celular (CAM), 59, 327-329
  - células presentadoras de antígeno y, 237c, 238
  - de células B, 273
  - en la deficiencia de adhesión leucocítica, 501, 502c
  - en la extravasación de leucocitos, 327, 328, 329c, 332, 332f, 333, 333f, 334
  - en la extravasación de linfocitos, 336
  - en la inflamación, 327-329, 340-342, 341f, 346
  - en la muerte mediada por CTL, 356-357, 357f
  - específicas de leucocitos, 327
  - familias, 327-329, 328f, 329c. *Véanse también* Integrinas; Mucinas; Selectinas
  - funciones, 327-328, 327-329, 340-342, 341f
  - intercelular, 59
  - receptor de célula T y, 237c, 238, 352-353
  - superfamilia de las inmunoglobulinas, 103, 104f, 328f, 329. *Véase también en* ICAM
- Moléculas de adhesión intercelular (ICAM), 59
- Moléculas MHC clases I/II/III. *Véase en* Complejo mayor de histocompatibilidad (MHC)
- Monocinas, 302
- Monocitos, en hipersensibilidad tardía, 395
  - estructura, 36f
  - extravasación, 332f, 333-334, 333f. *Véase también* Leucocito(s), extravasación
  - formación, 25f
- Monofosfato de adenosina (AMP), en hipersensibilidad, 379
  - cíclico (cAMP), en hipersensibilidad, 379
- Mordeduras y picaduras, de araña viuda negra, inmunización pasiva contra, 477, 478c
  - de insectos, reacción de Arthus en, 392
  - de serpientes, inmunización pasiva contra, 477, 478c
- Morrison, L.A., 209
- Mosca de la fruta, inmunidad innata en, 71, 71f
- Motivo activador de inmunorreceptor basado en [fosfato de] tirosina (ITAM), células asesinas naturales y, 362
  - de células B, 279, 280f, 284, 362, 376-377
  - de células T, 235, 255, 362
  - de receptor de Fc, 376-377
- Motivo inhibidor de inmunorreceptor basado en [fosfato de] tirosina (ITIM), células asesinas naturales y, 362
  - de células T, 362
- Mucinas, 328, 328f. *Véase también* Moléculas de adhesión celular (CAM)
  - en inflamación crónica, 346
- Mueller, D., 406
- Muerte celular, inducida por activación, 264 en la tolerancia, 406
  - programada, 26. *Véase también* Apoptosis
- Mujeres, enfermedades autoinmunitarias en, 415, 416-417
- Muromonab-CD3, 141c
- Murray, J., 425, 434
- Mutaciones, en cáncer, 526, 529. *Véase también* Oncogenes
  - en genes de inmunoglobulina, 293-295, 295f
  - somáticas. *Véase también* Hipermutación somática
  - en plantilla, 127
- *myc*, en cáncer, 528, 529, 531, 531f
- *Mycobacterium avium*, evasión de las defensas del huésped por, 457
- *Mycobacterium tuberculosis*, 458-460. *Véase también* Tuberculosis
  - resistencia a fármacos, 469-470
- Mylotarg (gentuzumab), 141c

- Nakauchi, H., 28-29
- Necrosis y apoptosis, 26, 27f
- *Neisseria gonorrhoeae*, evasión de las defensas del huésped por, 455, 457f
  - resistencia al complemento en, 181, 181f
- *Neisseria meningitidis*, vacuna, 485
- Nelfinavir, para infección por VIH, 517c, 518
- Nemazee, D.A., 277, 278, 288-289, 404
- Neoplasias, 525. *Véanse también* Cáncer; Tumor(es)
- *neu*, en cáncer, 527, 528c, 530
- Neumonía, neumocócica, inmunización contra, 478, 479c, 485
  - relacionada con VIH, 513-514
- Neumopatía, inmunización activa contra, 478, 479c, 485
  - inmunización pasiva contra, 477-478, 478c
  - relacionada con VIH, 513-514
  - trasplante en, 440f, 442. *Véase también* Trasplante
- Neuraminidasa, en el virus de la gripe, 451-452, 451f
- Neutrófilo(s), 37-38, 38f, 65-66, 65f
  - deficiencia, 501
  - en fagocitosis, 65-66, 65f. *Véase también* Fagocitosis
  - en hipersensibilidad tardía, 395
  - en inflamación, 340
  - en reacciones de fase tardía, 383
  - extravasación, 38, 57, 58f, 59, 60, 60f, 332-334, 332f, 333f. *Véase también* Leucocito(s), extravasación
  - formación, 25f
  - rodamiento, 60, 60f
- Neutropenia, 501
- Nevirapina, para infección por VIH, 517c, 518
  - para VIH en el embarazo, 507
- NZB/NZW, ratones, autoinmunidad en, 412, 412c
- NFκB, 69, 70f
- NF-IL6, 344, 344f
- Niños, programa de inmunización, 478-480, 479c, 480f. *Véase también* Vacunas/vacunación
  - VIH en, 507. *Véase también* Infección por el virus de la inmunodeficiencia humana
- Nitrógeno, especies reactivas, 65-68, 68f, 340
- NKG2, receptores, 362
- NKT, células, 35-36, 364-365
- NOD, proteínas, 61-62, 62c
- Northern blotting, 558f, 559
- Nucleótidos, adición N, 125, 125f, 234-235, 234f
  - adición P, 125, 125f, 234, 234f
  - de región N, 120
  - de región P, 120
  - en arreglos de oligonucleótidos, 567-568

- *O*α, 203
- *O*β, 203
- Oct-2, 26c
- Oettinger, Marjorie, 119
- Oligonucleótidos, arreglos, 567-568
- Omalizumab, para hipersensibilidad, 387
- Oncogenes, 527-530
  - como antígenos tumorales, 537
  - funciones, 527-529
  - protooncogenes y, 527, 528f, 529-531, 531f
  - *ras*, 528c, 530
  - víricos y celulares, 527
- Oncostatina M, 310, A-30
- Opsonina, 37
- Opsonización, 37, 94-95, 169, 169f, 184, 184f
  - complemento en, 180c
- Organismos alogénicos, 241
- Órganos linfoides, endotelio venular alto en, 334-335, 334f, 335f
  - primarios, 23, 40-42, 40f
  - secundarios, 23, 40f, 42-49
- Osteoclastos, 36
- Osteopetrosis, interferón γ para, 323
- Owen, Ray, 439
- Oxidasa fagosómica de NADPH (phox), 65
- Óxido nítrico, 66-68, 68f
- Oxígeno, especies reactivas, 65-66, 68f, 340

- p53, en cáncer, 528, 528c
- p56, en la activación de células T, 255, 256f
- Palizumab, 141c
- Paludismo, 460-461, 460f
- Paperas, inmunización contra, 4c, 478, 479, 479c
- Parásitos. *Véase* Infecciones parasitarias
- Pasteur, Louis, 2-3, 3f, 468, 475
- Patogenia, definición, 7
- Patógenos, atenuados, en vacunas, 2-3
  - cepas atenuadas, en vacunas, 2-3
  - como armas biológicas, 468-469
  - definición, 7
  - mecanismos de ingreso al huésped, 9
  - tipos, 7c
- Patrón, receptores de reconocimiento (PRR), 55, 68
- Patrones, moleculares relacionados con patógeno (PAMP), 55
  - reconocimiento, 9, 61-65
- Paul, W. E., 384
- Pauling, Linus, 6
- *Pax*-5, 274f, 275
- PCR (reacción en cadena de la polimerasa), 559-560, 560f
- Pecado antigénico original, 290
- PECAM-1, 329, A-4
  - en la extravasación de leucocitos, 332, 334, 336
- Pelos, 54, 55f
- Penicilina, alergia a, 391, 391c, 393
- Pentadecacatecol, en el zumaque venenoso, 396, 397c
- Pentraxinas, 61
- Péptido(s). *Véase también* Proteína(s)
  - antigénicos, 16, 16f
  - antimicrobianos, 59-61
  - de cadena invariante relacionado con la clase II (CLIP), 215

- Péptidos(s) (*cont.*)
  - en complejos TCR-péptido-MHC, 238-241
  - en el modelo de dos genes-un péptido, 113-114, 115
  - en la selección tímica, 252, 253f
  - ensamblaje, en la vía citosólica, 212-214, 212f, 216f
    - en la vía endocítica, 215-217, 215f, 216f
  - fibrinopéptidos, 338
  - generación, en la vía citosólica, 210f, 211, 216f
    - en la vía endocítica, 214, 214f, 216f
  - líder (L), 115
  - señal, 115
  - sintéticos, en vacunas, 485-486
  - transporte, en la vía citosólica, 211, 212f
    - en la vía endocítica, 214-215, 216f
    - *TAP* en, 205
  - unión a MHC, moléculas/genes clase I en, 197-198, 197c, 198f
    - moléculas/genes clase II en, 197, 197c, 198-199, 215-216
- Perforinas, 353, 357-359, 358f, 360f
- Phox, enzimas, 65
- Piel, función inmunitaria, 53-54, 54f
  - infecciones micóticas, 465-467, 466c
  - injertos, 440f, 443
- P-K, reacción, 100, 374, 375c
- Placas de Peyer, 42, 43, 47, 47f
- Plantas, inmunidad innata en, 71, 71f, 72c
- Plaquetas, factor activador, 339, 339f
    - en hipersensibilidad, 379, 380c
  - factor de crecimiento derivado, en la superfamilia de las inmunoglobulinas, 103, 104f
  - formación, 25f
- Plasma, 42, 84
- Plasmacitoma, 86-87
- Plasmaféresis, 391
  - para enfermedad autoinmunitaria, 420
- Plasmina, 338
- *Plasmodium* spp., ciclo vital, 460-461, 460f
  - inmunorreacción a, 460-461
- *Pneumocystis carinii*, infección relacionada con VIH, 513-514
- Polen, alergias a, 20, 374, 374c, 381. *Véase también* Reacciones de hipersensibilidad
- Poli-A, sitios, del segmento génico C, 132, 132f
- Poli-C9, complejo, 175f, 176, 179
- Poliendocrinopatía autoinmunitaria, candidosis y distrofia ectodérmica, 407
- Poli-Ig, receptor, 99, 103, 104f
- Polimerasa, reacción en cadena (PCR), 559-560, 560f
- Polioma, cáncer inducido por el virus, 532c, 535-536, 536f
- Poliomielitis, erradicación, 483, 483f
  - inmunización contra, 3, 4c, 475, 478, 479, 479c, 481, 481f, 482-483, 483f
    - con vacuna Sabin, 482-483, 483f
    - con vacuna Salk, 483, 484
- Polisacárido, conjugado, vacunas, 486-487
  - vacunas, 485
- Pollos de la cepa *Obese*, tiroiditis de Hashimoto en, 412c, 413
- Poro, formación, en la muerte mediada por CTL, 357-358, 358f
- Portador, efecto, 291
- Portadores de hapteno, 77, 77f
- Portier, Paul, 18, 371, 381
- Poxvirus, inhibición de citocina por, 314
- Prausnitz, K., 100, 374
- Precipitación, reacciones, 151-153, 152c
- Precipitinas, 151
- Prednisolona, para inflamación, 347
- Prednisona, en inmunosupresión para trasplantes, 436
  - para hipersensibilidad, 388, 388c
  - para inflamación, 347
- Preeclampsia, genes KIR-MHC en, 364-365
- Presentación de antígeno, 35, 189, 207-218
  - alelos MHC y, 205-206
  - cadena invariante en, 214-215, 215f
  - carabinas moleculares en, 212-214
  - células blanco en, 209
  - células presentadoras de antígeno en, 209. *Véase también* Células presentadoras de antígeno (APC)
  - cruzada, 217, 217f
  - de antígenos no peptídicos, 217-218, 218f, 226
  - generación de péptidos en, en la vía citosólica, 210f, 211
    - en la vía endocítica, 214, 214f
  - panorama general, 209, 210f
  - por antígenos MHC clase I, 13f, 14, 35, 209
  - por antígenos MHC clase II, 13f, 14, 35, 209
  - por CD1, 217-218, 218f
  - por células dendríticas, 209
  - por macrófagos, 209
  - proteasomas en, 210f, 211
  - TAP en, 211-212, 211f
  - transporte de péptidos en, en la vía citosólica, 211-212, 211c
    - en la vía endocítica, 214-215, 215f
- Procaspasa 8, en la apoptosis, 264
- Procesamiento de antígeno, 189, 207-218, 208-209, 208f
  - en la vía citosólica, 209-214, 210f-212f, 216f
  - en la vía endocítica, 210f, 214-217, 214f-216f
  - endógeno, 209-212, 210f-212f, 216f
  - exógeno, 209, 210f, 214-217, 214f-216f
- Productos ribosómicos defectuosos (DRiP), 210
- Prolactina, en enfermedad autoinmunitaria, 417
- Promotores, 133-134, 135f
- Properdina, deficiencia, 186, 496f, 502
  - en la activación del complemento, 173, 174f, 175
- Prostaglandinas, en hipersensibilidad, 378f, 379, 380, 380c
  - en inflamación, 339, 339f
- Proteasa(s), inhibidores, para infección por VIH, 517c, 518
  - en hipersensibilidad, 379, 380c
- Proteasomas, en la presentación de antígeno, 210f, 211
  - en enfermedad cardiovascular, 66-67
  - en inflamación, 342-344, 342f
  - en la activación de células T, 257f, 258, 258f
- Proteína(s). *Véase también* Péptido(s)
  - A, 162
  - A/G, 162-164
  - activadora específica de células B (BSAP), 274f, 275
  - bactericida-de aumento de la permeabilidad, 66
  - básica de mielina (MBP), en autoinmunidad, 415, 418, 421-422
  - bioquímica, 551-555
  - C reactiva (CRP), 55, 56, 61, 62c
  - cofactor de membrana, 177c, 178f, 179
  - de Bence-Jones, 86
  - de enlace de células B (BLNK), en la activación de células B, 280f, 281, 282f
  - de fase aguda, 61, 168, 342-344, 342f, 344f
  - de membrana, en vacunas, 487, 487f
    - pliegue de inmunoglobulina en, 105
  - degradación, en la vía citosólica, 210-214, 210f
  - emisora de fluorescencia verde, 571
  - estructura, cristalografía de rayos X, 553-555, 555f
    - cuaternaria, 79f, 87
    - inmunogenicidad y, 79f
    - niveles, 79f, 87, 88
    - primaria, 79f, 87
    - secundaria, 79f, 87, 88f
    - terciaria, 79f, 87
  - G, 162
    - en inflamación, 340
    - en la unión a receptor de quimiocina, 331-332, 331f
    - en señalización, 333, 333f, 340
  - plegamiento, 87-90, 88f-90f
    - defectuoso, 210f, 211
  - radiomarcado, 551, 552f
  - S, 177c
  - vida media, 210
- Proteincinasa(s), en la activación de células B, 280f, 281, 282f, 284
  - en señalización, 10
  - fosforilación mediada por, en señalización, 69
- Proteinfosfatasas, en señalización, 10
- Protooncogenes, 527-530, 528f, 529-530. *Véase también* Oncogenes
  - conversión en oncogenes, 529-530
  - transposiciones, 529-530, 529f, 531, 531f
- Protozoarios, infecciones por, 460-462
- Provirus, 508
- Prozona, efecto, 153
- Prueba de Coombs, 390
- Pruebas cutáneas, hipersensibilidad tardía en, 393, 396
  - para alergenos, 386, 386f
  - para tuberculosis, 393
- *Pseudomonas* spp., estructura, 8f
- PSGL-1, 328
- Psoriasina, 53, 55f
- PU.1, 26c
- Pulmones, enfermedad. *Véase* Neumopatía
- Pulpa blanca, 45, 46f
- Pulpa roja, 45, 46f
- Púrpura trombocitopénica idiopática, 403c
- Pus, 340
- Pústula mamaria de la vaca, 2
- Pústula vacuna, en la inmunización contra viruela, 2, 4c, 75, 468

- Quemaduras, injertos de piel para, 440f, 443
- Queratitis estromática del herpes, mimetismo molecular en, 418

- Quimeras, 136
- Quimioatrayentes, 57-59
  - en inflamación, 332-334, 332f, 333f, 340, 343
- Quimiocinas, 10, 57-59, 302, 329-332
  - control, 329
  - en hipersensibilidad tardía, 395-396
  - en la extravasación de leucocitos, 332, 332f, 333-334
  - en la extravasación de linfocitos, 336, 337
  - en la multiplicación vírica, 512
  - en señalización, 331, 331f, 332
  - funciones, 329
  - inflamatorias, 329
  - receptores, 308, 308f, 331-332, 331f
  - subgrupo CC, 329, 330c
  - subgrupo CX, 329-331, 330c
- Quimiocinas CCR, 329-331, 330c, 337
  - receptores, 330c, 331-332
    - en la infección por VIH, 512
- Quimiocinas CXC, 329-331, 330c
  - receptores, 330c, 331-332
    - en la infección por VIH, 512
- Quimioluminiscencia, 156-157, 157f
- Quimioterapia, inmunodeficiencia por, 504-505

- Rabia, inmunización contra, 3, 477-478, 478c
- Radiación linfoide total, 436
- Radioalergosorbente, prueba (RAST), para hipersensibilidad, 386, 387f
- Radioinmunoensayos (RIA), 154-155, 156f
- Radioinmunosorbente, prueba (RIST), para hipersensibilidad, 386, 387f
- Radiomarcado, 164, 164f, 551
- *RAG-1/RAG-2*, 119
  - en el desarrollo de células B, 273, 278
  - en el desarrollo de células T, 249
  - en reordenamientos del gen del receptor de célula T, 231
- Rajewsky, K., 384
- Ramon, Gaston, 458
- Rapamicina, en inmunosupresión para trasplantes, 436
- *ras*, oncogén, 528c, 530
- Ras/cinasa MAP, vía, en la activación de células T, 257f, 258, 258f
- RAST (prueba de radioalergosorbente), para hipersensibilidad, 386, 387f
- Ratón(es), atímicos (desnudos), 41, 503-504, 503f
  - autoinmunidad en, 411-413, 412c, 413f
  - cepas congénicas, 193
  - cepas endogámicas, 547, 548c
  - como modelos experimentales, 546
  - complejo H-2 en, 190f
    - haplotipos en, 191-192, 191c, 192f
  - con desactivación génica, 564-565, 564c
    - producción de anticuerpo humano por, 137, 138f
  - congénicos, 193
  - desnudos (lampiños o atímicos), 41, 503-504, 503f
  - diabéticos no obesos, autoinmunidad en, 412-413, 412c
  - lampiños (atímicos), 41, 503-504, 503f
  - New Zealand Black, 412, 412c
  - New Zealand White, 412, 412c
  - quiméricos, 137
  - SCID, 504
  - singénicos, 193, 547
  - transgénicos, 137
    - autoinmunidad en, 418-419, 419f
    - producción, 563-564, 563f
    - y con desactivación génica, 564c
- Rayos X, cristalografía, 553-555, 555f
- *Rb*, 528, 528c
- RCA, genes, 177-180, 178f
- Reacción de Arthus, 392, 392f
- Reacción de linfocitos mixtos, en la tipificación de HLA, 429f, 430
- Reacción efectora, 1. *Véase también* Inmunorreacción
  - células asesinas naturales en, 35-36, 68, 351, 360-363
  - células B en. *Véase* Células B efectoras
  - células NKT en, 364-365
  - células T en. *Véase* Células T efectoras
  - citotoxicidad mediada por células dependiente de anticuerpo en, 35, 95, 98, 366, 366f
  - competencia antigénica en, 297, 298c
  - en rechazo de injerto, 431-432, 433f
  - evaluación experimental, 366-368
  - inhibición mediada por anticuerpo, 297-298
  - regulación, 297-298
  - señalización, 353-353
- Reacción inflamatoria, 57-59, 340-346. *Véase también* Inmunidad innata
  - activación, 169, 169f
  - aguda, 340-344
  - anafilatoxinas en, 182-184, 338-339
  - antiinflamatorios en, 346-348, 347f, 348f
  - cambios vasculares en, 340-341, 341f
  - citocinas en, 306-307, 307c, 339-340, 339-346, 339c
    - en inflamación aguda, 340-344, 341f, 342f, 344f
    - en inflamación crónica, 344-346
    - en reacción sistémica, 340-342, 341f
    - en reacciones de fase tardía, 383
  - complemento en, 180c, 182-184
  - crónica, 344
    - en enfermedad autoinmunitaria, 420-421
  - de fase aguda, 61, 342-344, 344f
  - de fase tardía, 383
  - definición, 340
  - edema en, 57, 340, 341f
  - en asma, 381-383, 382f
  - en reacciones de hipersensibilidad, 371, 383
  - enfermedad cardiovascular y, 66-67
  - especies reactivas de nitrógeno en, 65-66, 68f, 340
  - especies reactivas de oxígeno en, 65-66, 68f, 340
  - explosión respiratoria en, 65-66, 340
  - extravasación en, 38, 57, 58f, 59, 331-334, 332f, 333f. *Véase también* Extravasación
    - de leucocitos, 38, 57, 58f, 59, 60f, 327-328, 332-334
    - de linfocitos, 334-338, 335f-337f
  - factor de Hageman en, 338, 338f
  - fagocitosis en, 9, 36-37, 37f, 58f, 69, 341, 341f. *Véase también* Fagocitosis
  - fibrosis y, 344
  - formación de granuloma y, 344
  - interleucinas en, 339-340, 339-342, 339c, 341, 341f-343f
  - leucotrienos en, 339, 339f
  - lípidos en, 339, 339f
  - localizada (de fase tardía), 340-342, 341f, 383
  - neutrófilos en, 340
  - prostaglandinas en, 339, 339f
  - quimioatrayentes en, 332-334, 332f, 333f, 340, 343
  - quimiocinas en, 332-335
  - señalización en, 342-344, 344f
  - sistema de la coagulación en, 338
  - sistema de las cininas en, 338, 338f
  - sistémica (de fase aguda), 61, 342-344, 344f
  - sustancia de reacción lenta de anafilaxis en, 339, 339f
  - tromboxanos en, 339, 339f
- Reacción linfocítica mixta, 366-367, 367f
- Reacciones de hipersensibilidad, 371-397
  - a cucarachas, asma y, 385
  - a la penicilina, 391, 391c, 393
  - al polen, 20, 374, 374c, 381-383
  - alimentaria, 20, 383
  - anafilaxis en, 18, 20, 371
  - atopia en, 385
  - citotóxicas mediadas por anticuerpo (tipo II), 371, 372, 372f, 388-391
    - en alergia a la penicilina, 391, 391c
    - en anemia hemolítica, 389-391, 390f, 391c
    - en enfermedad hemolítica del neonato, 389-391, 390f
    - en reacciones transfusionales, 388-389
  - clasificación de Gell-Coombs, 371-372, 372f
  - definición, 371
  - estudios pioneros, 371
  - inmediatas, 371
  - mediadas por IgE (tipo I), 18, 100, 100f, 372-388, 372f
    - al polen, 383
    - alergenos en, 372, 373-374, 381-383
    - anafilaxis en, 18, 20, 371, 381
    - anticuerpo reagínico en, 374-375
    - anticuerpos bloqueadores en, 386
    - asma en, 381-383, 382f
    - atopia y, 373-374, 381-383
    - basófilos en, 375, 377-379
    - citocinas en, 380, 380c
    - dermatitis atópica en, 383
    - desgranulación en, 340, 363f, 373, 377-379, 377f, 378f
    - diagnóstico, 386, 387f
    - dosis de antígeno en, 383-384
    - estudios pioneros, 374
    - factores genéticos en, 383-385
    - histamina en, 379-380, 380c
    - leucotrienos en, 378f, 379, 380, 380c
    - localizadas, 381-383
    - mastocitos en, 375-376, 375f
    - mecanismos, 373f
    - mediadores, 379-380, 380c
    - presentación de antígeno en, 383-384
    - prostaglandinas en, 378f, 379, 380, 380c
    - pruebas cutáneas, 383-386
    - reacción P-K en, 100, 374, 375c
    - reacciones de fase tardía en, 383
    - regulación, 383-386
    - sistémicas, 18, 20, 371, 381

Reacciones de hipersensibilidad, mediadas por IgE (*cont.*)
    tratamiento, 386-388
    urticaria en, 383
  mediadas por inmunocomplejos (tipo III), 372, 372f, 391-393
  por fármacos, 391, 391c
    inmunocomplejos en, 393
  tardía (tipo IV), 371, 372, 372f, 393-396
    en dermatitis por contacto, 396, 397f
    en infección por VIH, 516c
    en pruebas cutáneas, 393, 396
    en rechazo de injerto, 431-433
    fases, 394-395, 394f
Reacciones medicamentosas, a la penicilina, 391, 391c
  inmunocomplejos en, 393
Reacciones transfusionales, 388-389
  hemolíticas, 388-389
Reactividad cruzada, 77, 149
  de antígenos de grupo sanguíneo ABO, 149
  de haptenos, 77, 78c
  de receptores de célula T, 242
  de vacunas, 149
  definición, 149
  en autoinmunidad, 417
Receptores CD94:NKG2, 362
Receptores de antígeno. *Véase* Anticuerpos
Receptores de cadena lateral, 6, 7f
Receptores de célula asesina natural, tipo inmunoglobulina, 362-364, 363f
  tipo lectina, 363-364
Receptores de célula pre-B, 274-275, 275f
Receptores de célula pre-T, 246-247, 247f
Receptores de célula T (TCR), 13, 35, 223-243
  afinidad de unión, 237-238, 237f, 237c, 238f
  αβ, 223, 224
    estructura y función, 226-228, 226f, 227f, 228c
    genes que codifican, 228-230, 229c
  alorreactividad de células T y, 241, 242f, 431
  CD1 y, 217-218, 218f
  CD3 y, 235, 236f
  CD4 y, 237-238, 237f, 237c, 238f
  CD8 y, 237-238, 237f, 237c, 238f
  CDR1 y, 227, 231f, 232, 235
  CDR2 y, 227, 231f, 232, 235
  CDR3 y, 227, 231f, 232, 234f, 235
  clona de cDNA, 225-226, 225f
  complejo con CD3 (TCR-CD3), 235, 236f
    en la selección tímica, 249
    en la activación de células T, 254-257
    linfocitos T citotóxicos y, 356
  complejos con péptido y MHC, 238-241. *Véase también* Complejos TCR-péptido-MHC
    anergia clonal y, 259-260, 260f
    correceptores y, 238, 239f
    en la activación de células T, 254-260, 255c, 256f-258f
    estructura, 240-241, 240f, 241f
  correceptores y, 237-238, 237f, 237c, 238f
  de células NKT, 35, 364-365
  diversidad, 16, 229, 229c, 232-235, 234f, 248
  dominios de región constante, 226-228, 226f, 227f
  dominios de región variable, 226-228, 226f, 227f
  en autoinmunidad, 414
  en la activación de células T, 254-261
  en la maduración de células T, 246-248, 247f
  en la superfamilia de las inmunoglobulinas, 103, 104f
  en señalización, 235, 246-248, 247f
  especificidad, 15f, 16, 223, 224, 227, 231
  estudios pioneros, 223-224
  exclusión alélica en, 231
  γδ, 223
    estructura y función, 226-228, 226f, 227f, 228c
    genes que codifican, 228-230, 229c
  identificación y aislamiento, 224-225
  modelo de doble receptor, 224
  modelo de identidad alterada, 224
  moléculas de adhesión celular y, 238, 238f, 352-353
  moléculas MHC clases I y II y, 236-238, 237c, 241, 241f
  organización génica en, 228-229, 228f
  panorama general, 223
  precursores, 246-247, 247f
  propiedades, 223
  reactividad cruzada, 242
  receptor de célula pre-T y, 246, 248f
  reordenamientos génicos en, 228-235
    adición N y, 234-235
    adición P y, 234-235
    CDR1/2/3 y, 232, 235
    consecuencias estructurales, 231-232, 231f
    diversidad y, 229, 229c, 232-235, 234f, 248
    exclusión alélica en, 231
    flexibilidad de unión y, 234, 234f
    maduración de células T y, 246-248, 247f
    mecanismos, 230-231
    no productivos, 229, 235
    panorama general, 229-230, 230f
    selección tímica y, 249, 250-251, 251f
    unión alterna y, 234, 234f
    unión combinatoria y, 233-234
  restricción a MHC propio, 206f, 207, 207f, 224, 224f
  sitios de unión, 226-228, 226f
  unión de superantígeno a, 260-261, 261f
Receptores de citocina, 302-303, 307-314
  afinidad de unión, 302-303
  clase I, 308-312, 308f, 309f
    estructura, 308-309, 308f, 309f
    subunidades, 309-311, 309f, 310f
  clase II, 308, 308f, 309
    subunidades, 309
  dimerización, 313
  en señalización, 310-311, 310f, 312-314, 312f, 313f, 313c, 316-317
  estructura, 308f, 309f
  familias, 308
  imitación por virus, 314, 314c
  subunidades, 309-311, 309f, 310f, 312
  superfamilia de inmunoglobulinas, 308
Receptores de direccionamiento, 336
Receptores de eritropoyetina, 308-312, 308f, 309f
Receptores de factor de necrosis tumoral, 308, 308f
  en la apoptosis, 264
Receptor de factor estimulante de colonias de granulocitos y macrófagos, 309-310, 309f, 310f
Receptores de factor inhibidor de leucemia, 309f, 310
Receptores de interferón, 308, 308f, 309
  en señalización, 312-314, 313f, 313c
Receptores de interleucina. *Véase en* Interleucina(s)
Receptores de lipopolisacárido, 62, 62c, 63f
Receptores de NKG2, 362
Receptores de proteína G ligada, quimiocina, 331-332, 331f
Receptores de reconocimiento de patrón, 55, 68
Receptores depuradores, 62, 62c
Receptor(es), edición, 404
Receptores Fc, 93-94, 102-103, 372-377, 388
  en hipersensibilidad, citotóxica mediada por anticuerpo, 388
    mediada por IgE, 372-373, 374, 376-377, 376f
  estructura, 102-103, 103f, 376-377, 376f
  neonatales, 102
Receptores poli-Ig, 99
Receptores tipo inmunoglobulina de célula asesina (KIR), 362, 363, 430
Receptores tipo Toll, 9, 57, 61, 62-65, 62c, 63f, 64f, 308
  receptor 1 de interleucina y, 308
  vía de transducción de señales para, 69-71, 70f
Recombinasas, 119-120
  V(D)J, 119
Reconocimiento, asociativo, 291, 292f
  de antígeno, por células B, 81-84, 82c
    por células T, 81, 82c
  de lo propio y lo extraño, 12
    alorreactividad de células T y, 241-242, 242f, 431
    selección clonal y, 17
  ligado, 291, 292f
Rechazo de injerto, 426-434
  agudo, 434
  alorreactividad en, 241-242, 242c, 431
  células dendríticas en, 427
  células T en, 426-427, 428f
    alorreactividad, 241-242, 242c, 431
    proliferación, 431
  citotoxicidad mediada por CTL en, 431-433
  complejo mayor de histocompatibilidad en, 428, 431
  con xenoinjertos, 435
  crónico, 434
  desarrollo, 426, 427f, 433-434, 433f
  especificidad, 426
  etapa de sensibilización, 431
  etapa efectora en, 431-432, 433f
  hiperagudo, 433-434, 433f
  hipersensibilidad tardía en, 431-433
  loci menores de histocompatibilidad en, 431
  manifestaciones clínicas, 433-434
  memoria inmunitaria en, 426
  prevención, 434-438. *Véase también* Terapia inmunosupresora
Refuerzo, inmunogenicidad en vacunas de, 80
Región de bisagra, 89f, 93-94, 93f, 97f
Regiones constantes (C), 85, 85f
  codificación de genes, 114-116, 116f
    de cadena ligera, 115, 116f

    de cadena pesada, 115, 116, 116f
    reordenamiento, 114-115. *Véase también* Genes de inmunoglobulina, reordenamiento
  de cadena ligera, 85, 85f, 87-89, 88f, 93, 115, 116f
  de cadena pesada, 85, 85f, 87-89, 88f, 93, 115, 116, 116f
  dominios. *Véase* Dominios de región constante
  en el modelo de dos genes-un péptido, 113-114, 115
Regiones de cambio, 128
Regiones determinantes de complementariedad (CDR), 85, 90-93, 91f, 92f
  variación de secuencia en, 124c
Regiones hipervariables, 90, 91f
Regiones variables (V), 85, 85c, 87-89, 88f
  de cadena ligera, 85, 85f, 87-89, 88f
    genes que codifican, 115, 116f
    reordenamiento génico en, 117-118, 117f, 118-122
  de cadena pesada, 85, 85f, 87-89, 88f
    genes que codifican, 115-116, 116f
    reordenamiento génico en, 118-122, 118f
  edición, 404
  en autoinmunidad, 414
  en el modelo de dos genes-un péptido, 113, 114, 115
  genes que codifican, 114-116, 116f
    reordenamiento, 116-122. *Véase también* Genes de inmunoglobulina, reordenamiento
Reguladores de la activación del complemento (RCA), genes, 177-180, 178f
Repetición(es), de consenso cortas, 177
  ricas en leucina, 63
  terminal larga, 563
Resonancia de plasmones superficiales (SPR), 149-150, 150f, 151f
Restricción a MHC propio, 206f, 207, 207f, 245
  de receptor de célula T, 224, 224f
  selección tímica y, 248-251, 250f
Resurgimiento de enfermedades infecciosas, 467f, 468-471
Retículo endoplásmico, ensamblaje de péptidos en, en la vía citosólica, 211, 212, 211f, 216f
    en la vía endocítica, 215-217, 215f, 216f
Retículo endoplásmico rugoso, ensamblaje de péptidos en, en la vía citosólica, 211-212, 211f, 216f
    en la vía endocítica, 215-217, 215f, 216f
  producción de inmunoglobulina en, 133, 134f
Retinoblastoma hereditario, 528
Retrovirus, 508-509. *Véase también* Infección por el virus de la inmunodeficiencia humana
  como vectores, 563
Rh, incompatibilidad de grupo, 389-391, 390f
Rhogam, 390, 390f
Richet, Charles, 18, 371, 381
Riesgo relativo, 205
Rinitis alérgica, 381
Riñón, trasplante. *Véase* Trasplante, renal
RIST (prueba de radioinmunosorbente), para hipersensibilidad, 386, 387f
Ritonavir, para infección por VIH, 517c, 518
Rituximab, 141c
  para cáncer, 542, 542c
  para enfermedad autoinmunitaria, 421
RNA, procesamiento de transcritos primarios de cadena pesada, 130-133
  virus, cáncer y, 527
    retrovirus, 508-509, 563
Rodamina, 160
Rosenthal, A., 207
Rotavirus, estructura, 8f
Roux, Pierre, 458
Rubéola, ensayos de inhibición de la aglutinación para, 154
  inmunización contra, 4c, 478, 479, 479c

Sakano, Hitoshi, 136
Salmonella spp., resistencia al complemento en, 181, 181f
Salmonella typhimurium, como vector de vacunas, 490
Sangre, formación. *Véase* Hematopoyesis
Saquinavir, para infección por VIH, 517c, 518
Sarampión, alemán. *Véase* Rubéola
  inmunización activa contra, 4c, 478, 479c, 480, 480f
  inmunización pasiva contra, 477-478, 478c
Sarcoma, 525. *Véase también* Cáncer
  de Kaposi, 527
SARS (Síndrome respiratorio agudo grave), 470-471, 471f
SCID, 19, 29-30, 30c, 311, 494f, 495f, 496-498, 496f, 497f, 504
  ratones, 504
Schatz, David, 119
Schwartz, R. H., 406, 434
Secuencias señal de recombinación, de dos giros, 119
  de un giro, 119
  diversidad de anticuerpos y, 119, 119f, 234, 234f
  diversidad de receptores de célula T y, 234, 234f
Segmentos génicos, codificación de cadena ligera, 115, 116f
  codificación de cadena pesada, 115-116, 116f
  definición, 115
  reordenamiento. *Véase* Genes de inmunoglobulina, reordenamiento
Segmentos génicos C, de inmunoglobulina. *Véase también* Genes de inmunoglobulina
    de cadena ligera, 115, 116f, 117-118, 117f
    de cadena pesada, 115, 116, 116f, 130-133
    estructura, 132
    reordenamiento, 117-118, 117f
  de receptor de célula T, 229-235, 229c. *Véase también* Receptor de célula T (TCR)
Segmentos génicos D, de inmunoglobulina, 115, 116, 116f. *Véase también* Genes de inmunoglobulina
    múltiples, diversidad de anticuerpos y, 123, 124f
    reordenamiento, 118, 118f. *Véase también* Genes de inmunoglobulina, reordenamiento
  de receptor de célula T, 228-235. *Véase también* Receptor de célula T (TCR)
Segmentos génicos J, de inmunoglobulina. *Véase también* Genes de inmunoglobulina
    de cadena ligera, 115, 116f
    de cadena pesada, 115, 116, 116f
    múltiples, diversidad de anticuerpos y, 123, 124f
    reordenamiento, 117-118, 117f, 118f
  de receptor de célula T. *Véase también* Receptor de célula T (TCR)
Segmentos génicos V, de inmunoglobulina. *Véase también* Genes de inmunoglobulina
    de cadena ligera, 115, 116f
    de cadena pesada, 115, 116, 116f
    múltiples, diversidad de anticuerpos y, 123, 124f
    reordenamiento, 117-122, 117f, 118f. *Véase también* Genes de inmunoglobulina, reordenamiento
  de receptor de célula T, 228-235, 229c. *Véase también* Receptor de célula T (TCR)
Segundos mensajeros, 10, 11f
Sela, M., 206
Selección clonal, 7, 16-18
Selección de genes, 565-566, 566f
  con el sistema Cre/*lox*, 565-566
  en ratones con desactivación génica, 565, 565f
  inducible, 565-566, 566f
Selección tímica, 248-253
  autotolerancia y, 248-249, 250, 250f, 403-404
  CD4$^+$ en, 250-251, 251f, 252f, 253, 254f
  CD8$^+$ en, 250-253, 250c, 251f-253f
  células estromales tímicas en, 249
  en autoinmunidad, 415f
  hipótesis de la avidez en, 252-252
  modelo de señalización diferencial, 252-253
  modelo estocástico, 253, 254f
  modelo instructivo, 253, 254f
  negativa, 245, 250-251, 250f
    en la apoptosis, 264-265
  péptidos en, 252, 253f
  positiva, 245, 249-251, 250f
  restricción de MHC propio y, 248-250
  señalización en, 252
  superantígenos, 261
Selectina(s), 328, 328f. *Véase también* Moléculas de adhesión celular (CAM)
  E, 328, 340
  en la extravasación de leucocitos, 332, 332f, 333, 333f, 334
  L, 328, A-9
    en la extravasación de leucocitos, 329c, 333
    en la extravasación de linfocitos, 336, 337
  P, 328, 329c, 340
    en la extravasación de leucocitos, 333, 333f,334
Sensograma, 150
Serotonina, en hipersensibilidad, 379, 380c
Serpientes, mordeduras, inmunización pasiva contra, 477, 478c

Seudogenes, 115
  de inmunoglobulina, 115, 123
  de receptor de célula T, 229
Seudópodos, 37, 37f
Shevach, E., 207
Shimonkevitz, R.P., 208
SIDA, 493. *Véase también* Infección por el virus de la inmunodeficiencia humana
Simios, retrovirus en, 509
  xenoinjertos de, 435, 444
Sincicios, en la infección por VIH, 512
Síndrome de Canale-Smith, 266-267
Síndrome de Chédiak-Higashi, 495c, 501, 537-538
Síndrome de choque tóxico, citocinas en, 319
  exotoxina en, 261c
  toxina, 261c
Síndrome de DiGeorge, 41, 351-352, 494f, 495c, 500, 500f
Síndrome de Goodpasture, 403c, 408, 409f
Síndrome de hiper-IgE, 499
Síndrome de hiper-IgM, 296, 494f, 495c, 496f, 498
  ligado al sexo, 296, 494f, 495c, 496f, 498
Síndrome de inmunodeficiencia adquirida, 493. *Véase también* Infección por el virus de la inmunodeficiencia humana
Síndrome de Job, 499
Síndrome de linfocitos desnudos, 204, 213, 213f, 494f, 495c, 498
Síndrome de Nezelof, 500
Síndrome de Sjögren, 403c
Síndrome de Wiscott-Aldrich, 494f, 495c, 496f, 498
Síndrome respiratorio agudo grave (SARS), 470-471, 471f
Sintetasa de óxido nítrico inducible (iNOS), 67
Sirolimo, en inmunosupresión para trasplantes, 436
sis, en cáncer, 527, 528c
Siskind, G.W., 293
Sistema de coagulación, 338
Sistema inmunitario, células, 30-40
  en el embarazo, 416-417
  evolución, 48f, 49
  órganos, 40-49
  panorama general, 1-20
Sistema linfático, 23, 40, 40f, 42
Sistemas de transferencia adoptiva, 547
Sistemas experimentales, 546-547, 547c
  bioquímica de proteínas en, 551-555
  cristalografía de rayos X en, 553-555, 555f
  cultivo de células, 547-551, 549c. *Véase también* Líneas celulares
  de transferencia adoptiva, 547
  electroforesis en gel en, 551-553, 552f, 553f
  in vivo e in vitro, 546
  microscopia bifotónica en, 570-571
  modelos animales en, 546-547, 563-564, 564f, 564c. *Véase también* Ratones
  radiomarcado en, 551
  tecnología de DNA recombinante en, 555-560. *Véase también* Tecnología de DNA recombinante
Sitios inmunológicamente privilegiados, en trasplante, 439
SIV (virus de la inmunodeficiencia de los simios), 509
SLP-60, 281
SNARE, proteínas, 378-379
Snell, G., 19
Sobrenadante de artritis por micoplasma, 261c
Southern blotting, 114, 558f, 559
Sox-4, 274f, 275
Sphingomonas, células NKT en la infección por, 365
src, en cáncer, 527, 528, 528c
Starzl, T.E., 444
STAT, 313, 313c, 316-317
  inhibición, en inmunosupresión para trasplantes, 437-438
Staudt, Louis, 570
Streptococcus pneumoniae, evasión de las defensas del huésped por, 455-457
  resistencia al complemento en, 181-182, 181f, 182c
  vacuna contra, 478, 479c, 485
Streptococcus pyogenes, evasión de las defensas del huésped por, 457
Suero, 4
  anticuerpos en, 84-85
  definición, 84
  enfermedad, 392-393
  fracción globulínica γ, 85
Superantígenos, en la activación de células T, 260-261, 261f, 261c
  en síndrome de choque tóxico, 319
  exógenos, 260-261, 261c
Superfamilia de las inmunoglobulinas, 103-105
  componentes, 103
  moléculas de adhesión celular en, 328, 329c. *Véase también* Moléculas de adhesión celular (CAM)
  receptores, 308, 308f
Sustancia de reacción lenta de anafilaxis (SRS-A), 339, 339f
Sustrato cromógeno, en ELISA, 155
Syk, en la activación de células B, 280f, 281, 282f

TAC, antígeno. *Véase* CD25
Tacrolimo, en inmunosupresión para trasplantes, 436
Tainer, John A., 84
TAK1, 69
TAP (transportador relacionado con procesamiento de antígeno), deficiencia, 213
  en el transporte de péptidos, 213
  en infecciones víricas, 451
  en la vía citosólica, 211-212, 211f
TAPA-1, en el complejo correceptor de célula B, 281-284, 283f
Tapasina, 212, 212f
TATA, secuencia, 134
T-B, conjugados, 285-286, 286f
T-Bet, en la regulación cruzada de células T colaboradoras, 317
Tec, cinasas, 284
Tecnología de DNA recombinante. *Véase también* Ingeniería genética
  activación y desactivación génicas en, 564-565
  análisis de huellas de DNA en, 560-561, 561f
  análisis de retardo en gel en, 561-562
  clonación en, 556-559, 557f, 558f
  endonucleasas de restricción en, 555-556, 556c
  ensayos de luciferasa en, 562
  genes indicadores en, 562
  hibridación in situ en, 558-559, 558f
  microarreglos en, 567-570, 570f
  Northern blotting en, 558f, 559
  ratones transgénicos en. *Véase también* Ratones
    producción, 563-564, 563f
    y ratones con desactivación génica, 564c
  reacción en cadena de la polimerasa en, 559-560, 560f
  selección de genes en, 565-567, 566f, 567f
  sistema Cre/*lox* en, 565-566
  Southern blotting en, 114, 558f, 559
  transferencia génica en, 562-566
  Western blotting en, 158
Tecnología de fluorescencia, 160-161, 161f
  avances, 571
Tejido linfoide, bronquial (BALT), 46
  cutáneo, 48-49
  evolución, 48f, 49
  intestinal (GALT), 46-47
  relacionado con mucosas (MALT), 43, 46, 47f
  secundario, recirculación de linfocitos en, 336-337
Tenofivir, para infección por VIH, 517c, 518
Teofilina, 388, 388c
Teorías instruccionales, 6
Teorías selectivas, 6-7
Terapia antirretrovírica altamente activa, 518
  en el embarazo, 507
Terapia génica, 33
Testosterona, en enfermedad autoinmunitaria, 416-417
Tétanos, 7-8
  inmunización activa contra, 4c, 478, 479, 479c
  inmunización pasiva contra, 477-478, 478c
Tetrámeros MHC, linfocitos T citotóxicos $CD8^+$ en, 355, 355f
Thomas, E.D., 19
Timectomía, en enfermedad autoinmunitaria, 420
Timerosal, autismo y, 4
Timo, 40f, 41-42, 41f
  antígenos dependientes, en la activación de células B, 278, 279c, 285-287
  antígenos independientes, en la activación de células B, 278-279, 279c
  apoptosis en, 41, 249-251, 249f
  cambios con la edad, 41-42, 42f
  estructura, 41, 41f
  extirpación, en enfermedad autoinmunitaria, 420
  maduración de células T en, 245-248, 247f, 248f
  origen de las células T en, 34-35
  selección de células T en. *Véase* Selección tímica
  trasplante, en el síndrome de DiGeorge, 500
  trastornos, inmunodeficiencias y, 500
Timocitos, 41
  antígeno H-Y y, 251
  apoptosis, 41, 249-251, 249f
  autotolerancia, 249f, 250-251
  definición, 245

  - doblemente negativos, 246-248, 247f
  - doblemente positivos, 247-248, 247f, 253, 254f
  - en ratones transgénicos, 250-251, 251f
  - maduración, 246-248, 247f, 248f
  - unión a MHC, 248-251, 250f, 250c
  - unipositivos, 248, 253, 254f
- Tinción con anticuerpos fluorescentes, 160-161, 161f
  - citometría de flujo y, 161-162, 162f
  - directa, 160-161, 161f
  - indirecta, 160-161, 161f
- Tiroiditis, autoinmunitaria experimental, 412c, 413
  - de Hashimoto, 346c, 403c, 407-408, 408f
    - modelos animales, 412c, 413
    - tratamiento, 419-422
- Tirosincinasa(s), en la activación de células B, 280f, 281, 282f
  - de Bruton (Btk), en la activación de células B, 280f, 281, 282f
    - en la agammaglobulinemia ligada al sexo, 280f, 281, 282f
- Tiselius, Arne, 84
- Título, 154
- Todd, C., 113
- Tolerancia, 78-79, 401-407
  - a los aloinjertos, 439-440
  - anergia en, 259-260, 260f, 404
  - antígenos que inducen, 402-403
  - apoptosis en, 406
  - células T reguladoras en, 406
  - central, 401, 403-304, 405f
  - CTLA-4 en, 406
  - deficiencia, 407. *Véase también* Enfermedad autoinmunitaria
  - definición, 401
  - especificidad, 403
  - establecimiento y mantenimiento, 402-407
  - inducción, antígenos orales para, 421-422
    - en trasplante, 439-440
    - exposición temprana a antígeno en, 439-440
  - lisozima de la clara de huevo de gallina en, 404-406
  - mecanismos, 403-407
  - periférica, 401, 402f, 404-406
  - secuestro de antígeno en, 407
  - selección tímica y, 248-249, 250, 250f, 403-404
  - señalización en, 406
- Tolerógenos, 403-404
- Tomates, inmunidad innata en, 71, 71f
- Tonegawa, S., 114, 116
- Tos ferina, inmunización contra, 4c, 478, 479, 479c
- Tositumomab, para cáncer, 542c
- Townsend, A., 208, 211
- Toxina de la dermatitis exfoliativa, 261c
- Toxina del síndrome de choque tóxico, 261c
- Toxoide, en vacunas, 458, 482c, 485. *Véase también* Vacunas/vacunación
- Tráfico, de linfocitos, 336
- Transcitosis, 95
- Transcripción, de genes de inmunoglobulina, 130-136, 131f, 132f
    - intensificadores en, 134-135, 135f
    - producción de inmunoglobulina ligada a membrana y secretada y, 134-135, 135f
    - promotores en, 133-134, 135f
    - regulación, 133-136, 134f, 135f
  - de genes del MHC, 204
  - factores. *Véase también* Transducción de señales
    - en inflamación, 342-344, 344f
    - en la activación de células T, 254-258, 255c, 262
    - en la hematopoyesis, 24-26, 26c
    - en la maduración de células B, 274f, 275
    - en la regulación cruzada de células T colaboradoras, 317-318
    - en la regulación del MHC, 204-205
    - en la señalización de citocina, 313
    - STAT, 313-314, 313c
- Transducción de señales, 10, 11f, 69-71
  - amplificación de señales en, 10
  - CD3 en, 235
  - células asesinas naturales en, 362-364, 363f
  - en cáncer, 528c, 538-540, 539f
  - en el desarrollo de células T colaboradoras, 316-317
  - en el reordenamiento de genes de inmunoglobulina, 119, 119f
  - en el transporte de péptidos, 214-215, 215f
  - en inflamación, 342-344, 344f
  - en la activación de células B, 279-284, 280f, 282f, 286-287
  - en la activación de células T, 254-259, 255c, 256f-259f, 281, 353-353, 354f, 406
    - señales coestimulatorias en, 259,259f, 263-264
  - en la activación de quimiocinas, 331
  - en la apoptosis, 264
  - en la extravasación de leucocitos, 332
  - en la inmunidad innata, 69-71, 70f
  - en la reacción efectora, 352-353
  - en la regulación cruzada de células T colaboradoras, 316-317
  - en la selección tímica, 252
  - en la tolerancia, 406
  - en tumores, 538, 539c
  - etapas, 70f
  - inicio, 10
  - panorama general, 10, 11f
  - proteínas en, 10, 11f
  - proteínas G en, 333, 333f, 340
  - receptor de célula T en, 246-248, 247f
  - receptores de citocina en, 310-311, 312-314, 312f, 313f, 313c
  - recombinasa V(D)J en, 119
  - secuencias señal de recombinación en, 119, 119f
  - segundos mensajeros en, 10, 11f
  - vía, 69, 70f
- Transfección de genes clonados, 556, 562-563, 562f
- Transferasa de desoxinucleotidilo terminal (TdT), 125, 125f
  - en el desarrollo de las células B, 273, 274c
- Transformación en líneas celulares, 549
- Transformación maligna, 526-527, 526f
- Transfusión sanguínea, de sangre de cordón umbilical, 33, 443
  - para incompatibilidad de grupo Rh, 390-391
  - reacción de hipersensibilidad en, 388-389
- Transgenes, integración celular, 562-564
- Transportador relacionado con procesamiento de antígeno. *Véase* TAP (transportador relacionado con procesamiento de antígeno)
- Transportadores, en la presentación de antígeno, en la vía citosólica, 211-212, 211f
- Transposiciones cromosómicas, en cáncer, 529-530, 529f, 531, 531f
- Trasplante, 425-444
  - alogénico, 33, 426-440. *Véase también* Aloinjertos
  - aspectos clínicos, 440-444, 440f
  - autólogo, 33
  - cardíaco, 435, 440f, 442
    - xenoinjertos en, 435
  - compatibilidad de HLA en, 428-429
  - de células madre, 32-33
  - de células neurales, 443
  - de córnea, 440f
  - de médula ósea, 440f, 441-442
    - para inmunodeficiencias, 503
    - pretratamiento en, 437
  - de páncreas, 440f, 442-443, 443f
  - de timo, en síndrome de DiGeorge, 500
  - definición, 425
  - determinación del grupo sanguíneo en, 428
  - enfermedad de injerto contra huésped en, 19, 33, 367-368, 441-442. *Véase también* Enfermedad de injerto contra huésped
  - hepático, 440f, 442
  - histocompatibilidad en, 428
  - historia, 425
  - panorama general, 425-426
  - pulmonar, 440f, 442
  - rechazo de injerto en, 426-434. *Véase también* Rechazo de injerto
  - renal, 425, 440f, 441
    - compatibilidad de HLA en, 430, 430f
    - historia, 425
    - xenoinjertos en, 435
  - singénico, 33
  - sitios privilegiados en, 439
  - tolerancia en, 439-440
  - tratamiento inmunosupresor en, 434-438. *Véase también* Tratamiento inmunosupresor
  - xenoinjertos en, 426, 435, 443-444
- Trastuzumab, 141, 141c
  - para cáncer, 542c
- Tratamiento inmunosupresor, en enfermedad autoinmunitaria, 419-420
  - inmunodeficiencia por, 504-505
  - para trasplante, 434-438
    - anticuerpos monoclonales en, 437
    - corticosteroides en, 436, 436f
    - específicos, 436-438, 438f, 439f
    - globulina antitimocito en, 437
    - inhibidores de la mitosis en, 434-436
    - metabolitos micóticos en, 420, 436
    - radiación linfoide total en, 436
- Tripanosomosis, 462, 463f
- Trombopoyetina, 321-323, 321c, 324f, A-30
- Tromboxanos, en inflamación, 339, 339f
- Tuberculina, reacción, 393
- Tuberculosis, 458-460
  - hipersensibilidad tardía en, 393, 395

- Tuberculosis (*cont.*)
  - inmunorreacción en, 458-460
  - patrones clínicos, 459
  - presentación de antígeno en, 218
  - resistente a antibióticos, 469-470
  - resurgimiento, 469-470
  - tratamiento, 459
  - vacuna contra, 459-460
- Tumor(es), benignos, 525
  - inmunorreacción a, 537-538
  - malignos, 525. *Véase también* Cáncer

- Ubicuitina, 210f, 211
- Unanue, E.R., 208
- Unión(es), alterna, diversidad de anticuerpos y, 234f
    - diversidad de receptores de célula T y, 233-234, 234f
  - combinatoria, diversidad de anticuerpos y, 123, 124c, 234f
    - diversidad de receptores de célula T y, 233-234, 234f
  - codificadoras, 120-121, 120f
  - homotípica, 329
  - señal, 120, 120f
- Urticaria, 383
  - atópica, 383

- V_β8.2, anticuerpo monoclonal, para enfermedad autoinmunitaria, 421
- V(D)J, recombinasa, 119
  - unión, diversidad de anticuerpos y, 123, 124c
- Vacunas/vacunación, 475-490
  - autismo y, 4
  - células B de memoria en, 290
  - con patógenos desactivados (muertos), 482c, 484
  - con pústula vacuna, 2
  - con toxoides, 458, 482c, 485
  - con toxoides desactivados, 458
  - con vectores recombinantes, 482c, 483, 488-490, 489f
  - con virus de la viruela de los canarios como vector, 488-490
  - conjugadas, 482c, 486-487
  - conjugados portadores de hapteno en, 290
  - de bacilo de Calmette-Guérin (BCG), 459-460, 481-482, 540
    - para cáncer, 540
    - para tuberculosis, 459-460
  - de DNA, 482c, 488, 489c
  - de glucoproteína vírica, 485
  - de microorganismos muertos, 482c, 484
  - de patógenos desactivados (muertos), 484
  - de péptido sintético, 485-486
  - de polisacárido, 485
    - conjugado, 482c, 486-487
  - de refuerzo, 479
  - declinación de la frecuencia, 479-480
  - definición, 2
  - desarrollo, 475-477, 481
  - efectos adversos, 479, 482-483, 484c
  - eficacia, 479-480, 480f
    - duración, 479, 480
  - en adultos, 479-480
  - en niños, 478-480, 479c, 480f
  - en países en vías de desarrollo, 475, 476
  - estudios pioneros, 2-3
  - exposición a mercurio en, 4
  - historia, 2-3, 475
  - impacto, 3, 4c
  - inmunidad colectiva y, 480
  - inmunidad pasiva y, 5, 95, 98
  - manipuladas por ingeniería genética, 482c, 483, 488-490, 489f
  - memoria inmunitaria en, 475-490
  - multivalentes, 482c, 486-487, 487f
  - neumocócica, 478, 479c, 485
  - panorama general, 475-477
  - para cáncer cervical, 534-535
  - para carbunco, 469
  - para difteria, 4c, 458, 378, 479, 479c
  - para enfermedad neumocócica, 478,479c, 485
  - para gripe, 3, 4c, 478, 479c, 483-484
  - para *Haemophilus influenzae*, 478, 479c, 486
  - para hepatitis, 478, 479c
  - para infección por VIH, 518-520
  - para *Neisseria meningitidis*, 485
  - para paludismo, 461
  - para paperas, 4c, 478, 479, 479c
  - para poliomielitis, 3, 4c, 478, 479c, 481-483, 481f, 482-483, 483f
  - para rabia, 3, 477-478, 478c
  - para rubéola, 4c, 478, 479, 479c
  - para sarampión, 4c, 478, 479, 479c
  - para tétanos, 4c, 7-8, 478, 479, 479c
  - para tos ferina, 4c, 478, 479, 479c
  - para tuberculosis, 459-460
  - para varicela, 478, 479c
  - para viajeros, 479
  - para viruela, 2, 3, 4c, 468, 475
  - para virus del papiloma humano, 534-535
  - patógenos atenuados en, 2-3, 483, 484c
    - como vectores, 488-490, 489f
  - pecado antigénico original y, 290
  - peptídicas sintéticas, 485-486
  - reactividad cruzada en, 149
  - resurgimiento de enfermedades y, 479-480
  - retos actuales y futuros en, 475, 476
  - retos futuros, 4
  - riesgos y beneficios, 3-4, 4c
  - Sabin contra la poliomielitis, 482-483, 483f. *Véase también* Poliomielitis
  - Salk contra la poliomielitis, 483, 484. *Véase también* Poliomielitis
  - subunitarias, 482c, 484-486
    - multivalentes, 486-487, 487f
  - tiempo de retraso en, 289f, 290c
  - tipos, 482c
  - vivas atenuadas, 481-484, 482c
- Vaina linfoide periarteriolar (PALS), 45, 46f
- Van der Waals, fuerzas, en interacciones antígeno-anticuerpo, 145, 146f
- Variabilidad, definición, 89
- Variación antigénica, en infecciones bacterianas, 455
  - en infecciones víricas, 451
- Varicela, inmunización contra, 478, 479c
  - zoster, inmunización pasiva contra la infección por el virus, 477-478, 478c
- Varmus, H.E., 527
- Vasos linfáticos, 42, 43f, 44
- VCAM-1, 328f, 329, 329c, A-13. *Véase también* Moléculas de adhesión celular (CAM)
  - en la extravasación de leucocitos, 329c, 333-334
  - en la extravasación de linfocitos, 337
  - en la maduración de las células B, 273
  - en la superfamilia de las inmunoglobulinas, 103, 104f
- Vector(es), bacteriófago λ, 556-558, 557f, 558c
  - bacteriófago P1, 557f, 558, 558c
  - cósmido, 556, 556c, 558c
  - cromosoma artificial bacteriano, 557f, 558, 558c
  - cromosoma artificial de levadura, 557f, 558, 558c
  - de vacunas, 482c, 483, 488-490, 489f
  - fago λ, 556-558, 557f, 558c
  - genómico, 556-558, 557f
  - plásmido, 556-558, 557f, 558c
    - en la clonación de DNA, 556-558, 557f, 558c
  - retrovíricos, 563
  - víricos, 556, 557f
- Vénulas endoteliales altas (HEV), 44, 334-335, 334f, 335f
- Vía citosólica, procesamiento de antígeno en, 209-212, 210f-212f, 216f, 217, 217f
- Vía de lectina, 170f, 175, 176f
  - de unión a manano, 175
- Vía de señalización JAK-STAT, 313-314, 313c, 316-317
- Vía del complemento, alterna, 170f, 173-175, 173c, 174f, 176f. *Véase también* Complemento/sistema del complemento
  - clásica, 169-173, 170f, 172f, 176f
- Vía endocítica, procesamiento de antígeno en, 209, 210f, 214-217, 214f-217f
- Viajeros, inmunizaciones para, 479
- Viruela, 2, 2f
  - bovina, 468
    - como vector de vacunas, 488-490, 490f
    - inhibición de citocina por, 314c
  - en bioterrorismo, 468
  - erradicación, 3, 475
  - inmunización contra, 2, 4c, 468, 475
  - virus, inhibición de citocina por, 314
- Virus, causantes de cáncer, 526-527
  - cepas atenuadas, en vacunas, 2-3
  - como vectores en clonación, 556, 557f, 563
  - Coxsackie, infección en mujeres, 416
  - de DNA, cáncer y, 527
  - de la inmunodeficiencia de los simios (SIV), 509
  - de la inmunodeficiencia humana, 508-509, 508f
    - activación, 511f
    - características, 508-509, 508f, 510f
    - cepas trópicas M, 512
    - cepas trópicas T, 512
    - clasificación, 512
    - correceptores para, 512
    - estructura, 508f
    - forma provírica, 508, 511f
    - forma retrovírica, 508-509
    - funciones proteínicas en, 510f
    - gama de huéspedes, 509
    - inductor y no inductor de sincicios, 512
    - infección de células blanco por, 511f

    infección. *Véase* Infección por el virus de la inmunodeficiencia humana
    multiplicación, 508, 509-510, 510f, 514, 514f, 516f
    organización genética, 510f
    variación antigénica en, 451
  de la leucemia (o linfotrófico) de células T del ser humano 1 (HTLV-1), 508-509, 527, 530
  de la leucosis aviar, 530
  de RNA, cáncer y, 527
    retrovirus, 508-509, 563
  definición, 448
  del herpes simple, evasión de las defensas del huésped por, 450-451
  del papiloma humano, cáncer cervical y, 527
    vacuna para, 534-535
  del sarcoma de Rous, 527
  destrucción mediada por anticuerpo, 449-450, 451
  efectos inmunosupresores, 451
  estrategias de supervivencia, 448-449, 449c
  estructura, 8f
  evasión de las defensas del huésped por, 450-451
  gripe, 451-454
  H5N1 aviar, 454
  multiplicación, 448-449, 509-512
  niloocidental, 449, 470
  oncogenes y, 527-530
  propiedades, 448-449
  provirus, 508
  retrovirus, 508-509
  variación antigénica en, 451
VLA-4, anticuerpos contra, para inflamación, 347
  en la maduración de las células B, 273
Von Behring, Emil, 4, 98, 458
v-*onc*, 527, 528c
Vpre-B, 273c, 274
v-*src*, 527, 528c

Weissman, Irv, 28
Western blotting, 158
Wiley, Don, 240
WSXWS, motivo, en receptores de interleucina, 308, 309, 311

Xenoinjertos, 426. *Véase también* Trasplante
  usos potenciales, 435, 443-444
Xid, 284

Yalow, Rosalyn, 155
Yancopoulos, G.D., 122
Yersin, Alexandre, 458

Zalcitabina para infección por VIH, 517c, 518
ZAP-70, 255-257, 281
  en inmunodeficiencia combinada grave, 497
Zidovudina para infección por VIH, 517c, 518
  en embarazo, 507
Ziegler, K., 208
Zinkernagel, R., 189, 207, 224, 249
Zona clara, en centro germinal, 293, 294f
Zona oscura, en centro germinal, 293, 294f
Zumaque venenoso, 396, 397f
Zuniga-Pfluker, 246